

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1934

THÈSE

160

No

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Georges SÉE

Ancien Interne des Hôpitaux
Né à Paris, le 10 Juillet 1904

SUR L'IMMUNITÉ
ANTIDIPHTÉRIQUE ACQUISE

ESSAIS CLINIQUES — ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

*Travail de l'Institut Pasteur de Garches et du Laboratoire
de M. le Professeur Robert DEBRÉ*

Président : M. R. DEBRÉ, Professeur

PARIS

AMÉDÉE LEGRAND, ÉDITEUR
93, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 93

1934

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1934

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Georges SÉE

Ancien Interne des Hôpitaux

Né à Paris, le 10 Juillet 1904

SUR L'IMMUNITÉ
ANTIDIPHTÉRIQUE ACQUISE

ESSAIS CLINIQUES — ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

*Travail de l'Institut Pasteur de Garches et du Laboratoire
de M. le Professeur Robert DEBRÉ*

Président : M. R. DEBRÉ, Professeur

PARIS

AMÉDÉE LEGRAND, ÉDITEUR
93, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 93

1934

I. — PROFESSEURS

MM.

Anatomie.....	ROUVIERE.
Anatomie médico-chirurgicale et chirurgie expérimentale.....	PROUST.
Physiologie.....	Léon BINET.
Physique médicale.....	STROHL.
Chimie médicale.....	DESGREZ.
Bactériologie.....	Robert DEBRÉ.
Parasitologie et histoire naturelle médicale.....	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales.....	BAUDOUIN.
Pathologie médicale.....	CLERC.
Pathologie chirurgicale.....	CHEVASSU.
Anatomie pathologique.....	ROUSSY.
Histologie.....	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale.....	TIFFENEAU.
Thérapeutique.....	LÉPER.
Hygiène et médecine préventive.....	TANON.
Médecine légale.....	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie.....	LAIGNEL-LAVASTINE
Pathologie expérimentale et comparée.....	FIESSINGER.
Hydrologie thérapeutique et climatologie.....	M. VILLARET.
	ACHARD.
Clinique médicale.....	BEZANÇON.
	CARNOT.
	Marcel LABBÉ.
Hygiène et clinique de la première enfance.....	LEREBoullet.
Clinique des maladies des enfants.....	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale ..	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux.....	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses.....	LEMIERRE.
	CUNÉO.
Clinique chirurgicale.....	GOSSET.
	GRÉGOIRE.
	LENORMANT.
Clinique ophtalmologique.....	TERRIEN.
Clinique urologique.....	MARION.
	BRINDEAU.
Clinique d'accouchements.....	COUVELAIRE.
	JEANNIN.
Clinique gynécologique.....	J.-L. FAURE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.....	OMBRÉDANNE.
Clinique thérapeutique médicale.....	RATHERY.
Clinique oto-rhino-laryngologique.....	LEMAITRE.
Clinique thérapeutique chirurgicale.....	Pierre DUVAL.
Clinique propédeutique.....	SERGENT.
Clinique de la Tuberculose.....	Léon BERNARD.
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte.....	MATHIEU.
	HOVELACQUE
Professeurs sans chaire.....	MULON.
	OLIVIER.
	VERNE.



II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

ALAJOUANINE... Neurologie et Psychiâtrie.
 BÉNARD (Henri). Pathologie médicale.
 BERNARD Étienne. Pathologie médicale.
 BOULIN Pathologie médicale.
 BROCCQ..... Pathologie chirurgicale.
 BULLIARD..... Histologie.
 CATHALA Pathologie médicale.
 CHABROL..... Pathologie médicale.
 CHEVALLIER .. Pathologie médicale.
 DOGNON..... Physique.
 DONZELOT Pathologie médicale.
 FEY Urologie.
 GALLIARD..... Parasitologie.
 GASTINEL..... Bactériologie.
 GATELIER Pathologie chirurgicale.
 DE GAUDART D'ALLAINES. Pathologie
 chirurgicale.
 GAYET Physiologie.
 GIROUD Histologie.
 HAGUENAU Pathologie médicale.
 HALPHEN Oto-rhino-laryngologie.
 HAZARD Pharmacologie.
 HUGUENIN Anatomie pathologique.
 JOANNON Hygiène.
 LABBÉ (Henri)... Chimie biologique.
 LACOMME Obstétrique.

MM.

LANTUÉJOUL .. Obstétrique.
 LAROCHE (Guy). Pathologie médicale.
 LEMAIRE Pathologie expérimentale.
 LEVEUF Pathologie chirurgicale.
 M^{lle} J. LÉVY Pharmacologie.
 LÉVY-VALENSI.. Neurologie et Pyschiâtrie.
 MOREAU Pathologie médicale.
 MOULONGUET . Pathologie chirurgicale.
 MOUQUIN Pathologie médicale.
 OBERLING..... Anatomie pathologique.
 PETIT-DUTAILLIS. Pathologie chirurgicale.
 PIÉDELIÈVRE . Médecine légale.
 PORTES Obstétrique.
 QUÉNU Pathologie chirurgicale.
 RICHET Physiologie.
 SANNIÉ..... Chimie biologique.
 SÉNÈQUE..... Pathologie chirurgicale.
 SÉZARY Dermatologie et syphili-
 graphie.
 TROISIÈRE Pathologie expérimentale.
 TURPIN Pathologie médicale.
 VALLÉRY-RADOT
 (Pasteur)..... Pathologie médicale
 VELTER..... Ophtalmologie
 VIGNES Obstétrique.
 WILMOTH Pathologie chirurgicale.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.

ALGLAVE Pathologie chirurgicale.
 BUSQUET Pharmacologie.
 CHAILLEY-BERT Physiologie.

MM.

LEROUX Anatomie pathologique.
 NEVEU-LEMAIRE. Parasitologie.
 ZIMMERN Physique.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent.

MM.		MM.	
ABRAMI	} Clinique médicale.	GUÉNIOT	} Clinique obstétricale.
AUBERTIN		LELORIER	
BRULE		LÉVY-SOLAL	
CHIRAY		METZGER	
DUVOIR			
HARVIER			
LIAN			
MM.			
BASSET	} Clinique chirurgicale.		
CADENAT			
HEITZ-BOYER ..			
MOCQUOT			
MOURE			
SCHAWRTZ			

V. — CHARGÉS DE COURS

MM.	
CHAILLEY-BERT, agrégé	Éducation physique.
FREY	Stomatologie.
LEDoux-LEBARD	Radiologie clinique.
WEIL-HALLÉ	Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MA FEMME

A MES PARENTS

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR ROBERT DEBRÉ

Professeur de bactériologie
Médecin de l'hôpital Hérault

A MON MAITRE

M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ AUBERTIN

A MON MAITRE

M. LE DOCTEUR LESNÉ

Membre de l'Académie de Médecine

A MON MAITRE

M. LE DOCTEUR RIST

Membre de l'Académie de Médecine

A MON MAITRE

M. LE DOCTEUR CROUZON

A MON MAITRE

M. LE DOCTEUR EMILE WEIL

A MON MAITRE

M. LE DOCTEUR BENSAUDE

A MONSIEUR G. RAMON

Directeur de l'Institut Pasteur de Garches

A MES MAÎTRES DANS LES HOPITAUX

Stage

MONSIEUR LE PROFESSEUR HARTMANN
MONSIEUR LE PROFESSEUR WIDAL (*in memoriam*).
MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ RIBIERRE (*in
memoriam*).

Externat

MONSIEUR LE PROFESSEUR GOSSET.
MONSIEUR LE DOCTEUR EMILE WEIL.
MONSIEUR LE DOCTEUR RAVAUT

Internat provisoire

MONSIEUR LE DOCTEUR CLAUDE GAUTIER
MONSIEUR LE DOCTEUR RENÉ BÉNARD.

Internat

MONSIEUR LE DOCTEUR EMILE WEIL.
MONSIEUR LE DOCTEUR CROUZON.
MONSIEUR LE DOCTEUR RIST.
MONSIEUR LE PROFESSEUR DEBRÉ.
MONSIEUR LE DOCTEUR LESNÉ.
MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ AUBERTIN.

A MONSIEUR LE DOCTEUR CHARRIER

Chirurgien des hôpitaux

A MESSIEURS LES DOCTEURS

JACQUES DECOURT, HENRI LEMAIRE, JACOB,
ROBERT CLÉMENT.

Médecins des hôpitaux

A MESSIEURS LES DOCTEURS

MARCEL FERRAND, JULIEN MARIE,
J. CHRISTOPHE, ROBERT LEVY, HENRY DUVAL

INTRODUCTION

Dix années de vaccination antidiphtérique par l'anatoxine de G. Ramon ont montré son inocuité, son efficacité et la grande supériorité de cette méthode sur celles employées antérieurement : notamment les divers mélanges toxine-antitoxine, hyper ou hyponeutralisés suivant les différentes techniques.

La pratique de l'immunisation, ses résultats immédiats ou lointains, sur chaque enfant ou dans les collectivités où la diphtérie sévit à l'état endémique, sont connus.

Certes, il s'agit d'une excellente méthode de vaccination ; cependant elle n'est point encore parfaite et les cas de diphtérie survenant chez des individus vaccinés ont pu faire douter de sa valeur. Il est donc permis de chercher à en améliorer la technique pour en augmenter les succès.

Dans la première partie de ce travail, nous exposerons les résultats que nous avons obtenus dans la vaccination de nombreux enfants au moyen d'une anatoxine à valeur antigène très élevée qui nous a permis de réduire à deux le nombre des injections et d'élever le pourcentage des enfants immunisés, et

d'atteindre à peu de chose près 100 % de succès, sans augmenter la fréquence et l'intensité des réactions vaccinales.

D'autre part, l'anatoxine diphtérique permet d'obtenir très facilement chez l'animal une immunité considérable, jamais atteinte par les procédés antérieurs, immunité facilement titrable par le dosage de l'antitoxine dans le sérum et enfin immunité à peu près identique pour chaque animal ayant reçu la même quantité du même antigène.

Grâce à ce moyen merveilleux, qui permet d'obtenir de grandes séries d'animaux immunisés d'une façon égale et dans les proportions désirées nous avons repris l'étude du problème de l'immunité acquise contre les infections.

Et nous exposerons en second lieu les résultats que nous ont donné de nombreuses expériences.

Ce travail est donc composé de deux parties :

— L'une, pratique améliorant la vaccination humaine dans des proportions importantes.

— L'autre, expérimentale, visant à préciser le mécanisme de l'immunité antidiphtérique provoquée par l'anatoxine.

Toutes deux nous permettant de perfectionner les résultats de la vaccination antidiphtérique.

PREMIÈRE PARTIE

VACCINATION HUMAINE

CHAPITRE I

ÉTAT ACTUEL

La méthode de vaccination actuellement employée comporte trois injections, respectivement de 1 cm³, 1 cm³ 1/2. et 1 cm³ 1/2 d'anatoxine, faites à trois semaines d'intervalle. Elle permet d'obtenir entre 94 et 96 % de succès, jugés par la transformation de la réaction de Schick qui de positive devient négative après la vaccination. Son efficacité est donc évidente, et d'ailleurs démontrée par son influence sur la disparition d'états endémiques dans les localités où la vaccination a été suffisamment répandue.

Cependant plusieurs critiques lui ont été adressées :

La nécessité de faire trois injections a rebuté beaucoup de familles où l'on craignait d'infliger aux enfants ces piqûres répétées.

Les réactions générales ou locales légères et toujours bénignes qui peuvent se produire après chaque injection vaccinale ont effrayé également parents et médecins, et ces deux causes ont un peu contribué à limiter la diffusion de cette méthode de vaccination dans tous les milieux.

Enfin il est souvent difficile, en dehors des hôpitaux où ils sont à demeure, et de certaines écoles, de faire venir les enfants à date fixe à trois reprises. Beaucoup de ce fait ne reçoivent qu'une ou deux injections d'anatoxine et une certaine proportion n'est pas immunisée tout en étant considérée comme telle, et peut subir les atteintes du bacille de Klebs-Loëffler.

En dernier lieu, l'anatoxine même administrée dans les meilleures conditions ne donne jusqu'à présent qu'un pourcentage de 94 à 96 % de succès. Sur 100 enfants vaccinés, il en reste donc 4 à 6 % dont la réaction de Schick est restée positive et qui n'ont pas une immunité suffisante pour être garanti contre les atteintes du bacille diphtérique. Parmi les 94 à 96 autres, la plupart, 9 sur 10 environ, possèdent dans leur sérum plus de 1/10^e d'unité antitoxique par centimètre cube et sont donc très fortement protégés.

Mais chez les derniers le sérum ne contient que peu d'antitoxine, entre 1/30 et 1/10 d'unité par centimètre cube. Ces enfants bien qu'ayant une réaction de Schick négative sont à la limite de l'immunité.

Il existe donc par les méthodes employées jusqu'à présent un certain nombre d'enfants, 8 à 10 % au maximum, qui sont insuffisamment protégés et qui peuvent contracter la diphtérie.

Suivant le pouvoir pathogène essentiel des germes diphtériques en cause, et l'immunité plus ou moins grande du sujet, ces enfants pourront présenter des atteintes de gravité très variable depuis la bénigne

angine avec un minimum de fausses membranes, guérissant sans l'aide de la sérothérapie, à l'angine moyenne nécessitant un traitement banal, jusqu'à l'angine maligne hypertoxique si pouvoir pathogène très élevé et absence d'immunité se rencontrent chez un même sujet.

D'autre part, la vaccination se propageant de plus en plus, le nombre des enfants insuffisamment immunisés augmente dans les mêmes proportions. La diphtérie accentuant sa fréquence et sa malignité en France ainsi que dans les autres pays d'Europe, le nombre de ces diphtéries des vaccinés est également plus élevé.

De nombreuses publications sur ce sujet ont éveillé l'attention et fait naître des doutes sur l'efficacité de la vaccination antidiphtérique, alors que depuis longtemps des cas de variole ou de typhoïde ont été observés chez des individus immunisés sans que l'on songe à discuter la valeur de la vaccination jennérienne ou antityphique. L'existence de ces diphtéries chez des vaccinés est donc certaine, logique, et avait été prévue par les promoteurs de la méthode. Elle ne doit pas entraîner un manque de confiance dans l'anatoxine, mais il est naturel de chercher à perfectionner les résultats de la vaccination et surtout de s'efforcer d'obtenir l'immunité chez tous les sujets.

CHAPITRE II

TENTATIVE DE MODIFICATIONS DE LA MÉTHODE

Beaucoup d'auteurs ont cherché à atteindre ces résultats par des modifications plus ou moins importantes apportées à la technique de la vaccination.

Nous ne parlerons pas des tentatives visant à atténuer ou à supprimer les réactions post-vaccinales, et qui emploient les voies nasales, digestives ou cutanées comme porte d'entrée de l'antigène, car elles diminuent le pourcentage des succès dans des proportions considérables et vont à l'encontre de notre but.

De nombreux auteurs ont essayé de modifier l'antigène lui-même.

Certains ont employé diverses sortes de mélange d'anatoxine et d'antitoxine. (Aldershof, Glenny et O'Brien), mais outre que le procédé donnait des résultats médiocres, les réactions étaient plus vives : d'une part, du fait du sérum antidiphthérique d'autre part, de la libération d'une petite quantité de toxine (Henseval et Nélis).

Beaucoup d'auteurs, et Ramon le premier, ont cherché à utiliser le Fléculat obtenu par le mélange antitoxine + anatoxine (Glenny, Swyer, d'Antona), mais les résultats ont été constamment inférieurs à ceux donnés par la méthode de l'anatoxine brute.

Certains ont cherché à modifier l'antigène par de très nombreux procédés chimiques ou physiques : soit abaissement du pH du milieu. Glenny et Walpole, Watson et Wallace, Loke et Main, Leullier, Sédallian et Clavel. S. Schmidt ; soit précipitation au moyen de sels divers : Ramon, Glenny, Pope Waddington et Wallace. Abt, Wadsworth-Quigley et Sickles, Pondmann et Tasmann. Tous ces travaux ont montré que la valeur antigène de cette anatoxine modifiée était diminuée dans des proportions plus ou moins grandes.

Une autre voie a tenté quelques bactériologistes : la purification de l'anatoxine ; Schmidt, à l'Institut danois de Sérothérapie, a obtenu ce résultat par l'action de l'hydrate d'alumine, puis du phosphate de soude en se basant sur la méthode de purification des diastases de Willstätter. Il aurait ainsi obtenu des anatoxines titrant 100 à 300 unités antigènes par centimètre cube, puis cette teneur aurait été portée à 500, 1000 et même 1200 U.A. par centimètre cube (Schmidt, Hansen et Kpaer).

Jensen a mis en pratique cette anatoxine en immunisant des enfants au moyen d'une seule injection de un centimètre cube d'une anatoxine titrant 300 unités.

Après un mois chez 91 % des sujets, la réaction de Schick de positive était devenue négative, et ceci sans réaction vaccinale plus sévère qu'avec une anatoxine* ordinaire. Mais l'auteur lui-même note que le sang de ces enfants contient en général moins de 1/30 d'unité antitoxique, ce qui permet un doute sur la valeur de ces réactions de Schick et sur l'immunité de ces enfants.

D'autre part, étant donné ce faible pourcentage, une nouvelle injection est indispensable et l'avantage paraît donc minime, particulièrement lorsqu'on envisage les difficultés techniques de réalisation de cette méthode sur une vaste échelle, la quantité d'anatoxine brute à produire pour être ensuite purifiée devant être énorme.

Plus récemment, M^{lle} Zajdel aurait purifié une anatoxine au moyen d'ultra-filtration et aurait obtenu une très bonne immunité avec des réactions très atténuées : mais ces résultats sont encore trop récents pour qu'il soit permis de les juger.

Enfin Ramon, Legroux et Schoen ont également coucentré cette anatoxine par redissolution dans l'eau distillée du flocculat anatoxine-antitoxine, puis chauffage à 100° ce qui rend l'antitoxine inactive et purifie l'anatoxine en éliminant 97 % de l'azote primitif du mélange. Cette anatoxine paraît, dans la pratique, donner des résultats moins satisfaisants qu'une anatoxine ordinaire.

Toutes ces tentatives, soit de préparation différente, soit de purification de l'anatoxine, semblent

done donner des résultats plutôt inférieurs à la vaccination banale, et des progrès devaient être cherchés dans une autre voie.

Ramon constata chez le cheval producteur de sérum antidiphtérique une augmentation anormale de la teneur antitoxique lorsqu'au point d'injection de la toxine, on provoquait artificiellement une inflammation, soit par l'effet de l'adjonction au bacille de Klebs-Loëffler d'autres agents pathogènes, soit par l'addition à la toxine de poudre de tapioca stérilisée (le tissu conjonctif, les polynucléaires, l'œdème rendant probablement plus lente la résorption de l'anatoxine et provoquant une meilleure utilisation de l'antigène donnant un rendement maximum).

Sicard, Paraf et Wallich, tentèrent une application pratique de cette remarque dans l'immunisation contre la diphtérie en utilisant la poudre de tapioca. De même Ramon et Nélis dans des essais récents, employèrent un mélange d'anatoxine et de chlorure de calcium, mais ces essais ne purent être poursuivis, malgré leurs bons résultats, par suite de l'intensité de réactions locales et générales obtenues.

Ramon et Zoeller eurent l'idée d'injecter un mélange de vaccins antityphique et antidiphtérique pensant que le premier, grâce à la forte inflammation locale qu'il provoque, jouerait le rôle du tapioca dans l'augmentation de l'immunité. Effectivement les résultats furent excellents.

Martin, Loiseau et Lafaille les confirmèrent et surtout Dopter employa cette méthode dans l'armée

sur un grand nombre de sujets et dans des circonstances épidémiologiques bien étudiées.

Il constate une excellente immunité antidiphtérique, près de 100 % des sujets Schick positif étant devenus négatif : immunité qui se traduisait par la disparition rapide d'endémie diphtérique, dont plusieurs avaient résistées aux mesures prophylactiques habituelles.

De même dans des régiments stationnés au Maroc, où la typhoïde est fréquente et grave, cette affection disparut presque intégralement.

Enfin, non seulement cette haute proportion de sujets immuns fut obtenue mais la valeur de cette immunité avait été accrue également ; tous ces sujets vaccinés possédaient dans leur sérum plus de $1/30$ d'unité antitoxique au centimètre cube. En effet, du sang fut prélevé chez 51 des sujets sur 177 un mois et demi après la vaccination :

Chez 5 % le taux d'antitoxine avoisinait $1/10$ au cm^3 .

Chez 35 % il était compris entre $1/10$ et 1 unité.

Chez 60 % il était supérieur à l'unité, atteignant parfois 20, 30, 40 unités.

Et pourtant ces excellents résultats ne furent obtenus qu'après deux injections seulement du mélange des vaccins TAB et anatoxine titrant 15 unités. Injections respectivement de $1,2 \text{ cm}^3$ de TAB et de 1 cm^3 d'anatoxine pour la première et de 1 cm^3 de TAB et de 1 cm^3 d'anatoxine pour la seconde, soit 30 unités antigènes au total.

La méthode la plus couramment employée comporte trois injections, la première de 1 cm³ de TAB + 1/2 cm³ d'anatoxine, la deuxième de 1 cm³ de TAB + 1 cm³ d'anatoxine, la troisième de 1 cm³ d'anatoxine seule. Chacune séparée par trois semaines d'intervalle.

D'après Dopfer, les réactions observées ne sont pas d'une intensité supérieure à celle que l'on observe avec le TAB seul et les bénéfices sont tels que Cathala emploie habituellement cette méthode dans l'immunisation des enfants.

Cependant il existe fréquemment de fortes réactions fébriles dans des cas assez nombreux. Une légère atteinte rénale a été notée ; si bien que cette méthode, et particulièrement dans le jeune âge, a de très nombreuses contre-indications, et qu'il est pratiquement impossible de la généraliser. Le but poursuivi : immuniser la totalité des enfants avec le minimum de réaction ne peut donc être atteint de cette manière.

Dès les débuts de la méthode de vaccination par l'anatoxine, on constata que les doses d'anatoxine injectée à des intervalles assez longs produisaient une meilleure immunité que les mêmes doses injectées à des intervalles plus rapprochés. Primitivement faites à quinze jours d'intervalle, on s'aperçut que l'immunité était plus forte en séparant de trois semaines les injections et l'on essaya d'améliorer encore le résultat en augmentant l'espace de temps entre les injections. Ramon et Robert Debré firent

des essais en portant l'intervalle à cinq semaines ; les résultats ne furent pas suffisamment améliorés pour compenser l'inconvénient de prolonger la durée de l'immunisation.

Dans une autre série d'essais, ces mêmes auteurs pratiquèrent à l'hôpital de Berck, en collaboration avec M. et G. Mozer, des vaccinations au moyen de 4 injections d'anatoxine, soit systématiquement, soit sur les sujets dont la réaction de Schick était restée positive après les trois injections habituelles. Ces essais furent couronnés de succès, mais la méthode déjà difficile à utiliser dans une collectivité hospitalière, paraît impossible à employer dans tout autre milieu.

Seule subsiste l'application d'une quatrième injection, mais à intervalle considérable après les précédentes, un an ou plus, injection de rappel qui supprime à peu près totalement les sujets insuffisamment immunisés et donne pratiquement un pourcentage de 100 % de succès et qui augmente considérablement le taux d'antitoxine sérique.

Cette méthode peu gênante sera toujours d'une grande utilité dans les vaccinations de quelque sorte qu'elles soient.

Toutes ces tentatives de modifications de la méthode de Ramon ont donc toutes donné des résultats peu utilisables dans la pratique médicale. Les unes parce que inefficaces, les autres parce qu'elles augmentent les réactions vaccinales ; les dernières enfin parce qu'elles multiplient le nombre des injections.

Restait une seule voie : obtenir une anatoxine possédant naturellement une très forte valeur immunisante. Dès la découverte des anatoxines, Ramon avait constaté de grandes différences dans leur faculté d'immuniser l'animal. Il avait également constaté le parallélisme entre l'intensité du pouvoir immunisant ou antigène de telle anatoxine et la propriété de produire un flocculat lorsqu'elle était mélangée à une quantité plus ou moins grande d'antitoxine et qu'elle était d'autant meilleure qu'elle flocculait plus vite et avec une plus grande quantité d'antitoxine.

Dès lors il était facile de mesurer le pouvoir antigène de l'anatoxine et Ramon adopta comme définition : la valeur antigène intrinsèque d'une anatoxine exprimée en fonction de l'unité antitoxique correspond à la quantité d'unités antitoxiques capables de faire apparaître la flocculation initiale dans 1 cm³ d'anatoxine.

S'il faut 10 unités antitoxiques pour faire flocculer 1 cm³ d'anatoxine, on dira que cette dernière titre 10 unités anatoxiques.

Des critiques ont été adressées à ce mode de dosage de l'anatoxine et Madsen lui préfère le dosage direct par injection d'anatoxine à l'animal, suivi de l'injection de quantités définies de toxines, l'anatoxine étant alors titrée par le nombre de doses mortelles auxquelles l'animal vacciné résiste.

En réalité, ce mode de dosage est coûteux, nécessitant le sacrifice de très nombreux animaux.

Au contraire, le dosage de l'anatoxine par la floculation est simple, rapide et donne dans les mains d'expérimentateurs différents sensiblement les mêmes résultats à une ou deux unités près. Ainsi qu'on a pu le constater en faisant titrer les mêmes lots d'anatoxine dans divers instituts français et étrangers.

La méthode couramment employée pour caractériser une anatoxine dérive donc de son pouvoir flocculant.

Dans de nombreux essais sur les animaux, Ramon a constaté le parallélisme entre le pouvoir flocculant et la propriété d'immuniser. Les animaux ayant reçu une injection d'anatoxine à pouvoir flocculant élevé résistent ultérieurement à l'inoculation d'un grand nombre de doses mortelles de toxines alors que d'autres animaux vaccinés dans les mêmes conditions avec un même volume d'anatoxine, mais à faible pouvoir flocculant ne supportaient pas une dose bien plus petite de toxine.

Ces expériences furent confirmées dans le monde entier et notamment par Bayne-Jones, Bouchet, Sdrodowski et Chalapina, D'Antona, Povitzki...

De même dans l'immunisation active de l'homme, on constata immédiatement l'importance du pouvoir flocculant de l'anatoxine. Jamais une anatoxine de valeur antigène faible n'a donné une bonne immunité et au contraire, plus une anatoxine a un pouvoir flocculant ou antigène élevé, meilleure est l'immunité conférée.

Ce fait ne tarda pas à être confirmé dans la pra-

tique par Ramon et Nélis qui dans un groupe d'enfants vaccinés avec une anatoxine titrant 5 à 7 unités au cm^3 obtinrent 80 % de succès alors qu'ils en eurent 95 % dans un autre groupe d'enfants au moyen d'une anatoxine titrant de 12 à 15 unités.

Depuis ce fait a toujours été confirmé et notamment par Ramon, Robert Debré, G. et M. Mozer à l'hôpital maritime de Berek ; par Ramon, Timbal et Nélis dans de nombreux essais effectués sur plusieurs colonies d'enfants en Belgique, et par Tomcsik en Hongrie.

Chaque progrès dans l'élévation du pouvoir antigénique de l'anatoxine a été constamment suivi d'un progrès dans la vaccination.

Il semble que le résultat de la vaccination soit en rapport avec la quantité d'unités antigéniques injectées plus qu'avec le nombre ou le volume des injections.

La méthode initiale comportait 3 injections de $1/2 \text{ cm}^3$, 1^3 cm^3 , $1 \text{ cm}^3 \ 1/2$ d'une anatoxine titrant 8 à 10 unités au cm^3 soit au maximum 30 unités anatoxiques au total.

La méthode actuellement employée se compose de 3 injections de 1 cm^3 , $1 \text{ cm}^3 \ 1/2$, $1 \text{ cm}^3 \ 1/2$ d'une anatoxine titrant 10 à 12 unités au cm^3 , soit de 40 à 48 unités au total.

Un progrès pouvait être fait dans l'augmentation des doses mais au risque de déterminer des réactions vaccinales plus fortes. Ce progrès pouvait également être amené par l'augmentation de la valeur antigène de l'anatoxine ?

Ramon, améliorant le procédé de culture sur bouillon des bacilles diphtériques, put obtenir d'une façon courante une toxine particulièrement active et par suite sa transformation en une anatoxine à valeur antigène remarquablement élevée. L'application de ces travaux a permis de produire commercialement des anatoxines à valeur antigène atteignant 30 et même 40 unités anatoxiques au cm^3 .

Il a bien voulu nous permettre d'utiliser cette nouvelle anatoxine et nous allons exposer la méthode employée et les résultats obtenus.

CHAPITRE III

TECHNIQUE SIMPLIFIÉE DE VACCINATION

Toutes les vaccinations ont été faites dans des dispensaires de Paris ou de sa banlieue immédiate sur des enfants constituant la clientèle ordinaire de ces établissements. C'est-à-dire qu'ils vivaient souvent dans des conditions insalubres et étaient dans un état de santé médiocre. L'âge de ces enfants s'étendait de 15 mois à 15 ans.

Chez tous nous avons pratiqué en premier lieu une réaction de Schick selon la technique classique en employant la toxine diluée préparée par l'Institut Pasteur. Les résultats ont été lus après une semaine. Nous avons été frappés par la très forte proportion d'enfants non réceptifs, explicable par la fréquence des contagés microbiens dans ces habitations surpeuplées. Nous avons pu constater à nouveau les rapports entre la réceptivité diphtérique et l'âge des enfants : le nombre des enfants réceptifs diminuant à mesure que l'âge s'élève.

Beaucoup de ces enfants à réaction de Schick négative ont cependant reçu une ou deux injections

d'anatoxine à la demande des parents. Aucun n'a souffert de réaction particulièrement violente.

Ne seront comptés dans notre statistique que les enfants ayant présenté une réaction de Schick positive avant la vaccination. Ceux-ci ont reçu deux injections seulement d'anatoxine. Celle-ci a été faite dans l'hypoderme de la fosse sous-épineuse, région qui ne risque guère d'être infectée par les mains de l'enfant et où l'épaisseur du tissu cellulo-grasieux diminue les réactions locales.

Les injections ont été faites à trois semaines d'intervalle, la première de 1 cm³, la seconde de 2 cm³. L'anatoxine employée titrant en moyenne 25 unités au centimètre cube. En deux injections seulement chaque enfant a donc reçu 75 unités anatoxiques, dose très supérieure à celles employées dans la méthode courante, tout en diminuant le nombre des injections et en n'augmentant pas leur volume.

Trois semaines après la dernière injection vaccinale, une deuxième réaction de Schick a été pratiquée et lue dans les mêmes conditions que la première.

Voici maintenant les résultats fournis par cette méthode simplifiée.

Sur 355 enfants à Schick positif avant la vaccination, 353 présentèrent une réaction négative après deux injections d'anatoxine à valeur antigène élevée.

Chez quatre de ces enfants la réaction était encore légèrement positive 3 semaines après la dernière injection, mais sans qu'ils aient reçu de nouvelle dose d'anatoxine, une troisième réaction effectuée

quinze jours après la précédente était complètement négative. L'immunité existait donc bien mais n'avait pas eu le temps de se constituer d'une façon suffisante pour négativer la réaction d'épreuve.

Chez deux enfants, l'un ayant reçu une anatoxine titrant 20 unités, deux réactions de Schick répétées à quinze jours d'intervalle, restèrent nettement positives. Il fallut dans ces deux cas procéder à une troisième injection vaccinale, qui elle permit d'obtenir la négativité de la réaction cutanée après le délai habituel. Ces deux enfants sont donc les seuls succès de cette méthode simplifiée, qui nous a permis d'obtenir sur un nombre important de sujets, le pourcentage de 99,44 % d'individus immunisés.

Si l'on se rappelle qu'il est très facile d'obtenir la proportion de 70 à 80 % de sujets immunisés, qu'il est déjà difficile d'arriver au taux de 90 %, que ce n'est qu'après plusieurs années d'effort que l'on put obtenir celui de 94 à 96 %, on comprend combien il est important d'arriver à celui de 99,44 %, c'est-à-dire tout près de la totalité de sujets vaccinés, et cela tout en ayant simplifié le mode opératoire, en ayant réduit le nombre des injections de 3 à 2, rendant ainsi cette méthode plus pratique et permettant certainement d'appliquer la vaccination antidiphthérique à un bien plus grand nombre de sujets.

Étant donnée la richesse de cette anatoxine en unités antigènes, on pouvait croire que les réactions vaccinales subiraient un accroissement proportionnel de nombre et d'intensité. Il n'en a rien été, et nous

n'avons jamais constaté d'incident sérieux au cours de très nombreuses vaccinations.

La réaction locale survient dans un très grand nombre de cas, environ 40 %, mais elle reste ordinairement légère et à condition de pratiquer l'injection assez profondément dans la région dorsale paravertébrale ou dans la fosse-sous-scapulaire, elle n'est jamais gênante. La plupart des enfants d'ailleurs sont complètement indemnes et, en dehors de la sensation pénible provoquée par l'injection de l'anatoxine, ne présentent aucun malaise.

Trente enfants sur 355, soit à peine 10 %, ont présenté une réaction générale légère limitée à un crochet fébrile atteignant 38°5, transitoire ne dépassant jamais 24 heures, accompagnée d'inappétence et d'un peu de fatigue, tous symptômes disparaissant très rapidement et complètement.

Ce court malaise s'est produit chez 12 enfants après 1^{re} injection, chez 10 après la 2^e, et enfin chez 8 enfants après chaque injection vaccinale.

Nous n'avons donc pas noté de prédominance nette pour l'une ou l'autre des injections.

7 enfants ont présenté une réaction générale plus sérieuse sans avoir jamais été grave : anorexie, parfois un vomissement, abattement, accompagnaient une rapide élévation thermique à 39 ou 40 ; fièvre qui ou bien tombait en quelques heures et n'avait été qu'un incident du soir de l'injection, ou bien persistait pendant 24 à 48 heures et constituait une gêne réelle mais qui en l'absence de toute atteinte

de l'état général et de tout état local grave, n'a jamais présenté un caractère inquiétant.

Nous avons observé 3 fois cette forte réaction générale après la 1^{re} injection et la seconde fut supportée sans inconvénient, et quatre fois après la deuxième. Jamais nous ne l'avons observée après chaque injection.

Un seul enfant a présenté des accidents généraux sérieux accompagnés de signes d'atteinte rénale transitoire. Il s'agissait d'un garçon de 9 ans qui avait eu une angine diphtérique de gravité moyenne en 1932. Six mois plus tard, sa réaction de Schick était positive. La réaction à la toxine chauffée était très forte et avait attiré l'attention par son intensité. L'injection de 1 cm³ d'anatoxine provoqua une très forte réaction locale persistante, accompagnée de fièvre à 40° pendant une huitaine de jours et d'albuminurie avec cylindrurie. Tous ces troubles rentrèrent d'ailleurs dans l'ordre et le fonctionnement rénal revint à la normale. Cependant cet accident, le seul véritablement sérieux que nous ayons observé, nous empêche de continuer la vaccination de cet enfant qui *n'est pas compris dans notre statistique*.

A quelles causes attribuer cet accident ? A la sensibilisation par les protéines du bacille diphtérique ? Ou à l'action du sérum que cet enfant avait reçu pour le traitement de son angine ? Nous ne le pensons pas, car nous avons injecté de l'anatoxine à de nombreux enfants présentant un Schick positif quelques mois ou quelques années après une atteinte

diphthérique sans avoir eu de réaction particulièrement vive.

Nous pensons plutôt que cet enfant étant naturellement sensible aux protéines étrangères ainsi qu'en témoignent l'intensité de sa fausse réaction de Schick et une anatoxi-réaction nous aurait évité cet accident qui n'eut heureusement pas de suite.

En résumé, nous avons eu, sur un total de 355 enfants ayant subi une vaccination complète après avoir présenté une réaction de Schick positive :

- Dans 40 % des cas une réaction locale isolée.
- Dans 10 % une réaction générale minime.
- Dans 2 % une forte réaction générale.

Si nous n'avons pas noté de prépondérance notable des réactions après l'une ou l'autre des injections, nous avons par contre constaté à nouveau que leur nombre et leur intensité était nettement proportionnel à l'âge des enfants. Pratiquement nuls avant deux ans, les incidents sont plus fréquents entre 2 et 8 ans et paraissent d'autant plus nombreux que cet âge comprend la majorité des enfants vaccinés; et ils sont presque habituels chez les grands enfants.

Cependant leur gravité et leur fréquence sont tout à fait du même ordre avec cette anatoxine à valeur antigène élevée et avec les anatoxines anciennes, et l'on ne doit pas craindre son utilisation sur une grande échelle.

Cette anatoxine nouvelle nous a donc permis d'atteindre le but que nous nous étions proposé, c'est-à-dire d'obtenir l'immunisation de la presque

totalité des enfants vaccinés, et cela tout en simplifiant la méthode, et sans augmenter les réactions vaccinales.

La vaccination contre la diphtérie sera désormais presque aussi simple que la vaccination jennérienne, et son application méthodique, sa généralisation au plus grand nombre possible d'enfants, sinon à la totalité, but que l'on ne peut espérer avant l'application légale obligatoire de cette vaccination, doit permettre de faire diminuer le nombre et la gravité des atteintes de cette terrible maladie et peut-être un jour de la rendre aussi rare que le sont devenues à la suite des mesures d'hygiène, de prophylaxie et de vaccination, la lèpre, la peste, la rage et la variole.

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE PREMIER

TECHNIQUE

Nous allons maintenant nous efforcer de faire une étude scientifique de l'immunité provoquée par l'injection de l'anatoxine.

Le problème de l'immunité acquise est bien ancien : d'innombrables chercheurs ont expérimenté de toutes manières pour l'élucider ; de multiples théories, cellulaires, humorales, chimiques et physiques ont été invoquées pour en élucider le mécanisme.

Possédant un moyen nouveau, d'une puissance remarquable pour créer l'immunité : l'anatoxine, nous avons repris l'étude de cette question.

En effet, si l'anatoxine est d'une grande efficacité dans l'immunisation de l'homme son action est plus nette encore chez l'animal, et surtout chez les chevaux, les lapins, les cobayes.

Une même quantité d'anatoxine injectée à des animaux semblables permet d'obtenir non seulement une très forte immunité, mais cette immunité est sensiblement égale chez tous les sujets, quoique avec quelques variations individuelles.

Cette immunité est titrable chez les animaux par le dosage de l'antitoxine dans leur sérum. Enfin cette question d'antitoxine sérique est proportionnelle à la dose d'anatoxine injectée.

Il est donc possible en opérant sur des animaux du même élevage, de même espèce, de même âge et recevant la même nourriture, d'obtenir une immunité presque identique pour tout le lot, quel qu'en soit le nombre, immunité que l'on peut mesurer facilement et enfin, immunité que l'on peut à volonté obtenir plus ou moins solide.

Ces conditions permettent admirablement une étude expérimentale, et nous ont permis d'étudier à nouveau le problème ancien et difficile de l'immunité acquise.

En effet, dès 1898, Salimbeni étudiant le mode de destruction des microbes chez les animaux immunisés par l'injection de sérum antidiphtérique constate l'importance de la phagocytose. Au contraire, Pawlowski lui fait jouer un rôle secondaire, la défense étant particulièrement dévolue aux propriétés humérales de l'organisme immunisé.

En 1911, Maurice Nicolle et Loiseau faisant une étude d'ensemble sur les facteurs de toxicité des bactéries, expérimentèrent avec le bacille diphtérique.

Ils décrivirent parfaitement les accidents produits chez l'animal par l'injection intraveineuse d'une culture de bacilles. Ils exposèrent les lésions macroscopiques résultant de l'inoculation sous-cutanée,

soit de toxine à dose plus ou moins forte, soit d'un bacille non pathogène, soit d'un bacille très pathogène. Nous utiliserons en partie leur méthode de travail.

Dans la deuxième partie de leur mémoire, ils étudièrent les modifications résultant de l'injection de sérum thérapeutique dans ces diphtéries expérimentales. Ils notent la survie de l'animal et l'exagération des lésions locales, et ils mettent en cause l'hypersensibilisation, mais leur protocole opératoire est peu utilisable, car ils injectaient simultanément bacilles et sérum, soit en des places différentes, soit en mélange au même endroit.

Dans ces différentes expériences il ne s'agissait que d'une immunité passive, uniquement humorale, et il est permis de penser que l'immunité conférée par l'anatoxine est d'une qualité différente.

Cette étude a été faite tout d'abord par Zoeller et Manoussakis. Ils vaccinèrent des cobayes au moyen de deux injections, chacune de un centimètre cube d'anatoxine à dix jours d'intervalle. Une semaine après la vaccination, ils provoquèrent une légère lésion cornéenne par l'instillation de quelques gouttes de solution diluée de bile. Puis quelques heures après ils instillent des bacilles sur la cornée. Il se produit une légère conjonctivite, avec présence de bacilles diphtériques qui guérit rapidement, laissant une petite opacité cornéenne, alors que les animaux témoins non vaccinés font une kérato-conjonctivite, avec énorme œdème et fausses membranes. Les

uns meurent les autres après guérison ne présentent pas d'immunité, car une nouvelle instillation de bacilles est suivie d'une nouvelle kérato-conjonctivite ; et Zoeller note l'action anti-microbienne de la vaccination par l'anatoxine, les bacilles ayant rapidement disparus chez les animaux immunisés, ou bien étant restés *in situ*, réalisant des sujets sains, porteurs de germes pathogènes.

Nechtchadimenko dans des expériences ultérieures, confirma l'efficacité de la vaccination chez l'animal, en éprouvant les lapins neufs et vaccinés par l'injection intra-trachéale de culture de bacilles : les animaux non vaccinés mouraient de trachéite diphtérique ou de broncho-pneumonie à bacilles diphtériques et à strepto et staphylocoques ; alors que les lapins immunisés restaient sains. Dans cette étude, Nechtchadimenko note de meilleurs résultats lorsque l'anatoxine a été injectée en deux fois et constate la supériorité de l'anatoxine sur les mélanges toxine-antitoxine.

A l'étranger, de très nombreux travaux ont été publiés touchant les diphtéries expérimentales et l'immunité acquise par des procédés très variés, entre autres par injections de mélange neutre d'antitoxine et d'anatoxine par Pico, bacilles tués en injections intra-dermiques, sous eutanées, ou en pansement par Schwartz, par Hoen et Tschertkow, ou mélange hyponéutrisé de toxine et d'antitoxine par Gildemeister et Watanabe. Avec l'anatoxine, Tzechnovtzker, Kokhine et surtout Isabolinski et

ses collaborateurs ont fait des travaux importants soulignant la supériorité des injections hypodermiques sur les méthodes cutanées ou per-cutanées, l'efficacité de la vaccination et démontrant la transmission de l'immunité maternelle aux petits cobayes ceux-ci résistant à l'injection de 50 doses mortelles de toxine, lorsque leur mère résistait à celle de 300 doses mortelles.

Tous ces travaux, pour intéressants qu'ils soient, nous seront d'une faible utilité, car si tous indiquent l'efficacité des diverses vaccinations antidiphtériques, ils omettent ou négligent le mode d'action de cette immunité.

Nous avons projeté de faire une étude générale de l'immunité antidiphtérique. Nous désirons :

1^o Examiner le mode de réactions des tissus des animaux vaccinés en cas d'injection de bacilles.

2^o Constater les différences réactionnelles suivant le pouvoir pathogène nul ou élevé des germes injectés.

3^o Comparer les immunités actives dues à la vaccination par l'anatoxine et par la sérothérapie.

Nous avons cherché à déterminer le mode de réaction des tissus d'un animal vacciné en présence de bacilles diphtériques, et à préciser le sort des bacilles injectés.

A notre connaissance, seul d'Antona dans des travaux récents a fait une étude analogue.

Ayant pris des cobayes vaccinés par une injection de 5 cm³ d'anatoxine, il a injecté dans leur paroi

abdominale des cultures de 24 heures en bouillon Martin de bacilles diphtériques. Il a observé les effets généraux et locaux de cette inoculation et au moyen d'aiguilles stériles il a prélevé dans la lésion locale quelques gouttes de liquide exsudé dont il a fait des examens anatomo-pathologiques et des cultures sur sérum de bœuf.

Par ce procédé assez délicat et assez inexact, d'Antona a obtenu des résultats tout à fait intéressants et sur lesquels nous aurons à revenir après avoir fait connaître notre méthode de travail et nos résultats.

Nous avons repris la technique si précise déjà employée par Ramon. Robert Debré et Thiroloix dans leur étude sur le pouvoir pathogène du bacille diphtérique.

Nous avons employé des cobayes de 250 à 300 grammes, tous du même élevage qui ont reçu une seule injection de 5 cm³ d'une anatoxine titrant environ vingt unités anatoxiques au centimètres cube, anatoxine qui nous servait dans nos vaccinations humaines.

Nous servir d'animaux vaccinés en plusieurs injections pour obtenir une vaccination apparemment identique à celle des humains eut été inutile, car, dès la première injection, les animaux sont immunisés contre plusieurs centaines de doses mortelles de toxine. Une deuxième injection provoque une immunité considérable, nullement comparable à celle que l'on obtient chez l'homme.

Au moins un mois après la vaccination, nous injectons à ces cobayes une quantité précise de culture fraîche de bacilles diphtériques dont le pouvoir pathogène était connu.

Après vingt-quatre heures de culture sur sérum coagulé, le produit de raclage de la culture était émulsionnée dans dix centimètres cubes de sérum physiologique et immédiatement injecté en quantité variable aux animaux vaccinés et aux animaux témoins non immunisés.

Après avoir examiné les effets des injections, les signes pathologiques que présentaient les animaux, les lésions macroscopiques de la peau, nous sacrifions les animaux, pratiquons une autopsie rapide et prélevons toute la paroi abdominale où l'injection avait été faite. Nous avons fait des examens anatomo-pathologiques suivis de ces animaux depuis un quart d'heure après injection, jusqu'au vingt-cinquième jour. Etant donné que tous ces cobayes jouissaient d'une immunité égale qu'ils ont reçu le même dose de bacilles et que seul le facteur temps d'évolution de la maladie expérimentale, était variable, nous pensons que la comparaison peut-être faite avec exactitude.

Les pièces prélevées ont été fixées immédiatement et coupées après inclusion à la paraffine. Toutes nos coupes ont été colorées par l'hématéine éosine. Les colorations microbiennes ont été faites par la méthode de Gram et par de simples bleus — coloration très suffisantes puisqu'il s'agissait de recon-

naître la présence d'une variété de microbes dont nous connaissions la nature.

Tous nos examens anatomo-pathologiques ont été fait sous la direction de M. Eugène Normand conservateur du Musée-laboratoire de l'Hôpital Boucicaut. Fondation Letulle, dont la haute compétence nous a été d'un grand secours.

Cette technique expérimentale n'est pas nouvelle et déjà dans leur mémoire de 1888, démontrant que le bacille diphtérique agit par sa toxine, Roux et Yersin, employèrent couramment l'inoculation de bacilles vivants et pathogènes au cobaye, soit par voie muqueuse, trachéale ou vulvaire, soit surtout par voie sous-cutanée et ils décrivirent parfaitement la lésion locale lorsque la dose de bacilles injectés était faible, les lésions générales et surtout surrénales ayant provoqué la mort de l'animal lorsque la dose était forte. Ils montrèrent que le bacille reste au point d'injection, et qu'il n'existe qu'exceptionnellement dans le sang ou les viscères. Surtout ils prouvèrent que les lésions locales et générales étaient dues à la toxine, car son injection à dose faible ou forte, était suivie des mêmes effets locaux ou mortels, et que telle ou telle lésion pouvait être produite à volonté suivant la dose injectée.

Dans les années suivantes, de nombreux travaux confirmatifs furent effectués, notamment par E. Klein Beck, d'Espine et Marignac, qui employèrent diverses voies d'inoculations et par Welch et Flexner. Welch et Abbott qui firent de nombreux examens anatomo-

pathologiques des régions inoculées chez le cobaye : enfin citons Metin, qui contrairement à tous les auteurs, constate la présence du bacille de Klebs-Loëffler dans le sang et les viscères des lapins et des cobayes inoculés.

L'intérêt de notre travail découlera de la comparaison constante entre les lésions des cobayes neufs et vaccinés d'une part, d'autre part des différences observées suivant que l'immunité de ces animaux était active ou passive et enfin des modifications apportées dans les troubles locaux suivant le pouvoir pathogène des germes employés.

*
* *

La diphtérie expérimentale du cobaye neuf est bien connue.

Vingt quatre heures après l'injection, l'animal devient triste, se met dans un coin de sa cage, son poil se hérissé ; un léger œdème se produit au point de l'injection, la mort survient en trois ou quatre jours.

Si la dose de bacilles injectées a été forte, la mort survient en trente six ou quarante-huit heures.

Si la dose de bacilles est au contraire très faible, le cobaye maigrit, se cachectise ; la lésion locale, après s'être œdématiée, forme de petites croutelles puis se nécrose, s'escharrifie et l'animal meurt après huit à quinze jours.

Si la dose de bacilles a été tout à fait minime, les

signes généraux sont insignifiants. Seules se produisent les lésions au point d'injection : œdème, puis escharre qui tombe laissant un ulcère atone qui se cicatrise ensuite très lentement.

Si l'on emploie de la toxine au lieu d'une émulsion bacillaire, les troubles sont identiques, mais faciles à graduer dans leurs gravité suivant la dose injectée, alors que les effets d'inoculation du bacille sont variables suivant sa virulence et son pouvoir toxigène.

L'injection d'émulsion microbienne au *cobaye vacciné* n'est suivi d'aucun effet sur l'état général.

Aucun cobaye vacciné ne meurt, même par l'injection de fortes doses de bacilles, ce qui montre bien l'efficacité remarquable de cette immunisation.

La plupart ne sont pas malades et ne s'arrêtent ni de manger, ni de courir.

Donc, aucune intoxication chez le cobaye vacciné. Au contraire, les lésions au point d'injection sont considérables, même macroscopiquement.

En quelques minutes, ou en quelques heures, se produit un œdème énorme de la paroi abdominale, deux à trois fois plus volumineux que celui des animaux neufs.

Les jours suivants cette tuméfaction persiste, s'étendant souvent du sternum aux organes génitaux, dans toute la paroi ventrale, mais elle devient élastique et plus ferme.

Plusieurs évolutions peuvent se produire alors.

1^o Ou bien des croutelles se forment, la peau s'escharifie, et un peu de pus coule au dehors, lais-

sant apparaître un tissu de bourgeons qui cicatrise rapidement.

2° Ou bien la tuméfaction s'indure de plus en plus, tout en diminuant d'étendue et se limite à un petit nodule kystique de la paroi, qui doit pouvoir subsister fort longtemps.

3° Ou bien la tuméfaction disparaît progressivement, sans laisser aucune trace. L'ensemble aura évolué en une quinzaine de jours.

Si la dose de bacilles a été moindre, l'œdème, la tuméfaction sont plus légers et disparaissent en quatre ou cinq jours.

Si la dose a été tout à fait minime, on n'observe aucune modification macroscopique.

CHAPITRE II

Nous allons maintenant étudier les lésions microscopiques de ces diphtéries expérimentales, chez le cobaye neuf et chez le cobaye vacciné.

Nous décrirons ces lésions en suivant l'ordre chronologiques, comparant toujours animal vacciné et animal témoin nos premières expériences ont été effectuées au moyen de la souche P. R. souche humaine isolée du cours de l'hiver 1932 et qui présente l'avantage de posséder un pouvoir pathogène élevé avec une virulence moyenne et un pouvoir pathogène moyen également.

Animal témoin

Animal vacciné

Un quart d'heure après l'injection de 1/10 de cm³ d'émulsion microbienne diluée dans 2 cm³ de sérum physiologique.

La peau est normale.

• Dans l'hypoderme on note une dislocation du tissu conjonctif, dont les fibres sont rompues, présentant de fréquentes solutions de continuité, les mailles sont distendues par un liquide très abondant, sans infiltration cellulaire.

Aspect identique.

Cette région malade correspond à la zone injectée, et les régions périphériques sont saines.

Animal témoin

Les muscles sont intacts.

Bacilles dispersés dans toute la région injectée.

Lésion uniquement mécanique.

Pas d'inflammation.

Animal vacciné.

Même répartition.

•
Aspect identique.

Deux heures après l'injection de 1/10 de cm³ de l'émulsion microbienne.

Epiderme, derme : normaux.

Dans l'hypoderme les mailles de tissu conjonctif sont encore très distendues par du liquide, mais dans une zone moins étendue que dans la précédente coupe. Les fibres conjonctives paraissent plus nombreuses et en meilleur état.

On ne voit plus de solution de continuité.

Il existe une multitude de grains accrochés aux restes du tissu conjonctif, qui forment un aspect chevelu, granité : ces grains correspondent à un début d'œdème.

Tout autour de cette zone tuméfiée par le liquide injecté, commencent à apparaître des leucocytes mononucléaires et polynucléaires en excellent état.

L'œdème dissocie légèrement les faisceaux musculaires.

Quelques bacilles en tous petits amas dans la zone injectée.

Lésion surtout mécanique.

Début du processus inflammatoire.

Epiderme, derme : normaux.

Dans l'hypoderme, vaste zone dilacérée par le liquide, mais ici l'œdème est un peu moindre, la fusée leucocytaire moins nette : l'aspect poussiéreux du tissu conjonctif bien plus marqué.

Il n'y a pas d'œdème interfasciculaire dans la couche musculaire.

Bacilles dispersés par paquets de quelques unités.

Lésion du même ordre, mais moins intense.



Fig. 1. — Animal *neuf* sacrifié 48 heures après l'injection
de 1/10 de cm³.

- a) Réseau de fibrine dont les mailles contiennent de l'œdème.
- b) Réseau de fibrine dont les mailles sont vides d'œdème.
- c) Fibres musculaires striées normalement,
- d) Infiltrat leucocytaire très peu abondant.
- e) Amas de microbes et de leucocytes pulvérulents, plusieurs de ces
amas sont visibles dans la préparation.



Fig. 2. — Animal *vacciné* sacrifié 48 heures après l'injection
de 1/10 cm³.

- a) Abscès riche en polynucléaires.
- b) Zone de fibrine et d'œdème.
- c) Zone inflammatoire envahissant les fibres musculaires.

Animal témoin.

Animal vacciné.

Cinq heures après l'injection de 1/10 de cm³ d'émulsion microbienne.

Peau normale.

Au centre de l'hypoderme existe une zone extrêmement œdématisée ; les mailles conjonctives sont dilacérées. Des leucocytes pas très nombreux sont répartis à peu près uniformément dans cette région mais par place, surtout à la périphérie de l'œdème, ils se groupent en amas importants dans lesquels les uns sont encore normaux, les autres déjà pulvérisés.

La couche musculaire est envahie par l'œdème et par des fusées de leucocytes ; mais la fibre musculaire elle-même est intacte.

Très nombreux bacilles dans la zone où les polynucléaires sont très nombreux.

On n'en voit plus dans le reste de la zone injectée.

Lésion inflammatoire diffuse au début.

Peau normale.

Dans l'hypoderme une zone œdématisée, mais moins étendue.

A la périphérie de cette zone œdématisée, une barrière leucocytaire continue, formée de polynucléaires assez bien conservés, serrent les uns contre les autres autour de la région injectée.

L'inflammation commence à gagner les muscles.

Nombreux microbes dans la couche leucocytaire.

Lésion du même ordre, mais moins marquée.

Huit heures après l'injection de l'émulsion microbienne.

Epiderme normal.

Dermis : sa partie profonde est un peu œdématisée, quelques polynucléaires affluent vers le corps papillaire.

Dans l'hypoderme une zone très œdématisée et très infiltrée de nombreux leucocytes, ceux-ci se groupent en quelques amas et sont en état variable sains ou nécrotiques.

Epiderme et derme normaux. :

Dans l'hypoderme une zone très œdématisée, avec très nombreux leucocytes assez bien conservés. L'œdème progresse dans le muscle.

Animal témoin.

Les faisceaux musculaires sont également dissociés par l'œdème et les leucocytes, mais la fibre elle-même est intacte.

Très nombreux bacilles au milieu des amas leucocytaires mais il n'en existe pas ailleurs.

Violente inflammation à son début.

Animal vacciné.

Même répartition des bacilles.

Lésion semblable moins étendue.

Quarante-huit heures après l'injection de 1/10 de cm³ d'émulsion.

Voir figure 1.

L'animal est mort à la trente-sixième heure.

Peau normale.

Dans l'hypoderme, œdème léger distendant les mailles du tissu conjonctif, surtout dans la partie moyenne, les couches les plus superficielles et les plus profondes étant les moins atteintes.

L'infiltration polynucléaire est discrète.

Quelques vaisseaux sont dilatés et contiennent beaucoup de leucocytes.

Au milieu de l'œdème quelques petits amas arrondis au nombre d'une dizaine par champ et de taille variable, amas formé par un agglomérat de polynucléaires pulvérulents et de très nombreux microbes visibles même sur l'hématéine-éosine.

La couche musculaire commence à être infiltrée d'œdème et e rares polynucléaires.

Voir figure 2.

Peau normale. Dans l'hypoderme existe un véritable abcès avec polynucléaires, les uns relativement bien conservés, les autres pulvérulents.

Tout autour le tissu paraît condensé par l'accumulation de fibrine dans les mailles conjonctives, la multiplication des noyaux et l'envahissement leucocytaire progressif.

Quelques rares et petits amas microbiens et leucocytaires.

Vers les muscles se produisent des fusées inflammatoires avec œdème, leucocytes, et dilatation des vaisseaux avec margination des leucocytes.

Animal témoin.

Il existe de très nombreux bacilles dans les amas leucocytaires, quelques-uns autour des polynucléaires isolés dans l'œdème ; mais on n'en trouve, ni dans la peau, ni dans le muscle.

Violente attaque infectieuse.

Peu de réaction tissulaire.

Défense leucocytaire active mais infructueuse.

Animal vacciné.

Les microbes paraissent en bien plus petit nombre, et ils ne se trouvent que dans les amas leucocytaires ; ils ont un aspect granuleux, ressemblant à des chaînettes très courtes.

Forte réaction tissulaire et leucocytaire.

Dans la suite ne seront examinés que des cobayes vaccinés ayant reçu cette forte dose de 1/10 de cm³ de l'émulsion microbienne, tous les cobayes témoins ayant succombé.

*Quatre jours après l'injection, un cobaye vacciné présente :
Peau normale.*

Dans la partie centrale de l'hypoderme, un abcès à centre déliquescant, entouré de fibrine et de nombreux et minuscules agglomérats de leucocytes très altérés et de microbes.

En dehors de cet abcès, l'inflammation du centre décroît vers la périphérie dans l'hypoderme.

Elle a gagné la couche musculaire, où il y a entre les fibres des infiltrations de leucocytes en bon état. La striation des fibres n'est plus guère visible. Dans les espaces interfasciculaires, œdème, infiltration leucocytaire et début de réaction conjonctive avec multiplication des noyaux.

Dans le foyer, nombreux bacilles, les uns normaux, les autres se colorant mal et ayant un aspect granuleux. Il n'en existe pas en dehors du foyer abcédé.

Impression de violente lutte entre les phagocytes et les tissus d'une part, l'agression infectieuse d'autre part.

Cobaye vacciné sacrifié 6 jours après l'injection de 1/10 de cm³ de l'émulsion microbienne :

Peau normale.

Au centre de l'hypoderme, un gros foyer abcédé, avec beaucoup de fibrine, de nombreux leucocytes très altérés ne se colorant pas, et des bacilles.

Autour de cet abcès existe une réaction conjonctive extrêmement intense, avec apparition de nombreux fibroblastes et fibrocytes. Épaississement du tissu conjonctif qui pousse dans toutes les directions et donne l'image d'un véritable tissu fibromateux qui sépare l'abcès de la couche musculaire.

Les muscles présentent de grosses lésions d'œdème — d'infiltration leucocytaire, non seulement entre les faisceaux, mais entre les fibres mêmes. Celles-ci paraissent souvent mortes, se colorant mal, sans striation visible.

Au centre de l'abcès, un amas de bacilles agglomérés : on n'en voit pas dans les muscles.

Abcès collecté limité par une gangue conjonctive réactionnelle.

Cobaye vacciné sacrifié 9 jours après l'injection de 1/10 de centimètre cube d'émulsion microbienne. (voir figure 3)

Peau normale.

Dans l'hypoderme, un gros abcès (1 cm³ de diamètre), dans lequel existe un mélange de polynucléaires, les uns altérés, les autres assez bien conservés.

Cet abcès est limité par une énorme coque conjonctive, véritablement fibroïde, formée par un tissu conjonctif néoformé. De nombreux noyaux sont monstrueux et par place, on pourrait croire à une tumeur conjonctive maligne.

Cette prolifération fuse dans les muscles qu'elle dissocie.

Quelques bacilles dans le pus.

Abcès enkysté.



Fig. 3. — Abscès enkysté par une épaisse coque fibreuse.

Animal vacciné sacrifié 9 jours après l'injection de 1/10 de cm³.

- a) Cavité de l'abcès contenant un grand nombre de polynucléaires.
- b) Vaste zone de tissu inflammatoire limitant l'abcès.
- c) Fibres musculaires striées persistant dans le tissu inflammatoire réactionnel.
- d) Tissu inflammatoire réactionnel formant des tourbillons de cellules conjonctives d'aspect fibromateux.

Cobaye vacciné sacrifié 13 jours après l'injection de 1/10 de cm³ de l'émulsion microbienne.

Dans une région la peau est ulcérée, autour l'épithélium très aplati tend à retapisser l'ulcération ; ce n'est que sur les bords de la coupe que l'épiderme est normal ; le fond de l'ulcération est un tissu inflammatoire, véritable bourgeon charnu avec nombreux vaisseaux, leucocytes, fibrine et grosse réaction conjonctive. Au milieu de ce tissu inflammatoire se voient des lambeaux de fibres musculaires très altérées, et plus profondément, une couche musculaire presque intacte.

A la superficie, quelques cocci, probablement des staphylocoques. On ne voit pas de bacilles de Loëffler.

Processus de guérison d'une ulcération infectieuse.

Cobaye vacciné sacrifié 18 jours après l'injection de 1/10 de cm³ cube de l'émulsion microbienne.

L'épiderme est normal.

Toute l'épaisseur de l'hypoderme est occupée par un vaste abcès qui contient quelques leucocytes pulvérulents et qui est limité par une gangue conjonctive épaisse.

La couche musculaire superficielle présente un peu de prolifération conjonctive, la couche profonde est normale.

Dans le pus existe des chaînettes microbiennes ; quelques-unes correspondent bien à la longueur d'un bacille, d'autres paraissent plus longue (voir figure 8, page 84).

Aspect d'abcès froid.

Cobaye vacciné sacrifié 22 jours après l'injection de 1/10 de cm³ de l'émulsion microbienne.

La peau est normale.

Au-dessous un abcès avec polynucléaires bien conservés, limité par un tissu conjonctif encore assez riche en noyaux.

L'attaque infectieuse s'exerce encore, car dans l'intérieur de la cavité abcédée, les cellules conjonctives les plus rap-

prochées se décollent de la paroi, deviennent rondes, puis déliquescentes, et se mêlent au pus.

Les muscles sont normaux.

On ne trouve plus de bacilles libres, seulement dans quelques grands macrophages, se trouvent quelques bacilles à l'aspect très granuleux, simulant parfois des chaînettes.

Abcès enkysté, avec quelques zones d'augment.

Dans une autre série d'expériences, nous avons injecté une bien plus faible quantité de microbes, afin d'observer des modifications plus légères, mais peut-être plus pures et surtout de pouvoir suivre plus longtemps la comparaison entre un animal vacciné et un animal neuf.

Dans cette expérience, les animaux examinés dans les premières heures et les premiers jours, ont reçu $1/100$ de cm^3 de l'émulsion microbienne, soit la dixième partie de ce qui avait été inoculé aux cobayes de la série précédente. Les animaux examinés plus tard n'avaient reçu que $1/300$ de cm^3 de l'émulsion, soit la trentième partie de la dose initiale. Enfin les derniers n'ont subi l'injection que de $1/1000$ de cm^3 , soit la centième partie de la dose injectée aux cobayes de la première expérience, c'est-à-dire une dose ordinairement insuffisante pour tuer un cobaye.

Animal témoin.

Animal vacciné.

Trois heures après l'injection de $1/100$ de cm^3 de l'émulsion.

Peau normale.

L'hypoderme et la partie pro-

Peau normale.

Dans l'hypoderme existe un

Animal témoin.

fonde du derme, sont le siège d'un énorme œdème avec fibrine.

Les polynucléaires commencent à affluer, surtout à la périphérie du foyer ; quelques-uns paraissent altérés.

Déjà quelques espaces inter-musculaires sont envahis par l'œdème, et quelques leucocytes ; quelques fibres musculaires sont sectionnées.

Quelques bacilles dans la zone œdémateuse et infiltrée de leucocytes. On n'en trouve ni dans le derme, ni dans le muscle.

Réaction inflammatoire au début, surtout œdémateuse.

Animal vacciné.

gros foyer œdémateux, fibrineux et leucocytaire ; mais ce foyer est moins vaste les polynucléaires sont intacts.

L'œdème intermusculaire est très léger, il n'y a pas d'afflux leucocytaire.

Quelques bacilles en petits amas dans le foyer inflammatoire hypodermique.

On n'en voit pas dans les muscles.

Lésion du même ordre, mais l'impression de violence infectieuse est moindre.

Sept heures après l'injection de 1/100 de cm³ de l'émulsion microbienne.

L'épiderme est normal.

Dans l'hypoderme, un vaste foyer d'œdème, de fibrine de leucocytes, beaucoup plus nombreux que dans la coupe précédente.

La couche superficielle des muscles est très œdématisée et infiltrée de leucocytes dans les espaces inter-fasciculaires et dans les fibres mêmes. Ces vaisseaux musculaires sont dilatés et contiennent beaucoup de polynucléaires. La couche profonde est intacte.

Réaction inflammatoire franche.

L'épiderme est normal.

Il existe également dans l'hypoderme un foyer d'œdème et de polynucléaires, mais beaucoup plus limité.

«

La lésion musculaire est légère.

Réaction inflammatoire bien plus localisée et plus légère.



Fig. 4. — Animal *neuf* sacrifié 36 heures après l'injection de 1/100 de cm³.

- a) Fusées de leucocytes polynucléaires pulvérulents mélangés à la fibrine.
- b) Fibres musculaires frappées de mortification vitrifiante ; les fibres ont totalement perdu leurs stries transversales.
- c) Région interfasciculaire infiltrée de leucocyte pulvérulents et de fibrine.
- d) Cellules adipeuses dans les fibres musculaires.
- e) Endothélium capillaire tuméfié.



Fig. 5. — Animal *vacciné* sacrifié 36 heures après l'injection
de 1/100 de cm³.

- a*) Infiltrat de leucocytes polynucléaires bien conservés.
- b*) Capillaire dilaté rempli de globules rouges.
- c*) Fibres musculaires non mortifiées ayant gardé leur striation.
- d*) Fibres musculaires coupées transversalement.
- e*) Amas de leucocytes polynucléaires ayant sectionné plusieurs fibres musculaires.
- f*) Deux fibres musculaires striées isolées par les lésions inflammatoires.

Animal témoin.

Animal vacciné.

Vingt-quatre heures après l'injection de 1/100 de cm³ de l'émulsion.

L'épiderme est normal. Le derme et l'hypoderme sont distendus par une grosse quantité d'œdème et de fibrine.

Les cellules adipeuses sont gonflées par cet exsudat. Les leucocytes n'ont pas beaucoup augmenté de nombre, mais ils sont picnotiques et se groupent en petits amas.

Les muscles superficiels sont très atteints par l'œdème et l'infiltration leucocytaire ; les muscles profonds sont intacts.

Quelques bacilles dispersés dans la zone œdématisée. On n'en voit pas dans les muscles.

Lésion inflammatoire très œdémateuse.

Dans la graisse sous-cutanée existe un foyer important d'œdème de fibrine, et surtout de leucocytes ; polynucléaires en bon état qui forme un véritable micro-abcès.

Les lésions diminuent progressivement d'intensité en largeur : en profondeur, elles envoient dans les muscles des fusées œdémateuses et leucocytaires ; les fibres en certains points se colorent mal et n'ont plus de striation.

Très rares bacilles dans le micro-abcès.

Lésion suppurative.

Trente-six heures après l'injection de 1/100 de cm³ de l'émulsion.

Voir figure 4.

L'épiderme est normal.

Au-dessous lésions étendues d'œdème, de fibrine et d'infiltration par les leucocytes polynucléaires abondants et pulvérulents, mais il n'y a pas d'ulcération.

Les fibres conjonctives ont un aspect irrégulier, fragmenté ; elles se colorent mal, les limites cellulaires ne sont guère visibles, les noyaux sont à peine distincts sauf quelques-uns qui sont exagérément foncés.

Voir figure 5.

L'épiderme est normal.

Tout l'hypoderme est œdématisé et au centre existe un abcès avec très nombreux leucocytes bien conservés, mélangés à de la fibrine et à de l'œdème.

Cette inflammation gagne un peu en étendue vers le derme, et surtout vers les muscles.

Autour de l'abcès une réaction conjonctive proliférative s'établit.

Animal témoin.

C'est un aspect de coagulation des tissus, de nécrose vitrifiante.

Les fibres musculaires sont envahies et commencent à être détruites.

Nécrose hypodermique inflammatoire.

Animal vacciné.

Abcès collecté avec réaction conjonctive.

Quarante-huit heures après l'injection de 1/100 de cm³ de l'émulsion.

Les animaux neufs sont morts aux environs de quarante-huit heures.

L'épiderme est intact.

Tout l'hypoderme est le siège d'une épaisse lésion œdémateuse et fibrineuse ; en plusieurs places le tissu graisseux présente un aspect de nécrose vitrifiante caractérisé. Il y a relativement peu de leucocytes, sauf quelques amas arrondis de polynucléaires très altérés.

Cette inflammation gagne la base de l'épiderme et est intense dans les muscles.

Gros paquets de très nombreux bacilles dans les amas de leucocytes. Il n'y en a pas dans les muscles.

Inflammation phlegmoneuse aiguë, diffuse.

L'épiderme est intact.

Dans l'hypoderme existe un vaste abcès avec beaucoup d'œdème et de polynucléaires relativement bien conservés.

Le tissu conjonctif est en partie fibrinifié.

Cet abcès est assez bien limité par une réaction conjonctive abondante. La réaction inflammatoire pénètre au fond des muscles.

Quelques très rares bacilles : (deux ou trois dans l'abcès).

Inflammation aiguë avec réaction conjonctive subaiguë.

Nous ne décrivons plus dans cette série que quelques cobayes vaccinés, ayant reçu cette dose de 1/100 de cm³, les témoins étant tous morts.

Quatre jours après l'injection :

L'épiderme est détruit dans la partie centrale de la coupe. Normal à la périphérie, il s'amincit vers le centre, puis les noyaux deviennent picnotiques, les limites cellulaires se voient mal, le protoplasma se résout en granules, puis l'épiderme forme une masse anhyste mal colorée.

Dans la partie sous-jacente le derme est également transformé en une masse acidophile où seuls quelques noyaux sont visibles. Autour il est congestionné et présente une infiltration leucocytaire modérée.

Dans l'hypoderme, l'inflammation est en diminution avec œdème fibrine, et légère nécrose, quelques amas leucocytaires. Tendance à l'organisation conjonctive.

Dans le muscle, l'inflammation paraît ancienne, la prolifération conjonctive est déjà très marquée.

Nécrose de la peau. Diminution de l'inflammation hypodermique.

Six jours après l'injection.

L'épiderme est détruit, absent au centre de la coupe ; à la périphérie il est sain, puis il s'amincit et tend à retapisser l'ulcération. Le fond est formé par un tissu de granulation avec œdème, fibrine, polynucléaires et nombreux noyaux conjonctifs.

L'inflammation musculaire est très étendue, allant jusqu'au péritoine, mais elle est subaiguë, organisatrice.

Très nombreux microbes en nappe au niveau de l'ulcération : les uns sont des bacilles de Loëffler, d'autres des staphylocoques, d'autres des streptocoques en chaînettes.

Escharre de la peau en voie de réparation : diminution du processus inflammatoire.

Neuf jours après l'injection.

La peau est normale.

Dans l'hypoderme, légère prolifération conjonctive, Les muscles sont normaux.

Aucun microbe.

Séquelle d'inflammation ancienne.

Treize jours après l'injection.

La peau est normale.

Au centre de l'hypoderme, épaissement du tissu conjonctif et très légère infiltration leucocytaire. Dans le muscle, légère infiltration leucocytaire également.

Aucun microbe.

Inflammation subaiguë.

Dix-huit jours après l'injection.

La peau est normale.

L'hypoderme également. Dans le muscle, légère infiltration, avec petite rétraction cicatricielle fibreuse.

Inflammation subaiguë, localisée.

Vingt-trois jours après l'injection.

Petite escharré dermo-épidermique ; au-dessous réaction inflammatoire ancienne, fibreuse. Fibres conjonctives mal formées et légère infiltration leucocytaire.

Les muscles sont sains.

Escharre en voie de cicatrisation.

Vingt-six jours après l'injection.

La peau et l'hypoderme sont normaux. Les muscles de même, sauf que le tissu conjonctif inter-fasciculaire est un peu épaissi.

Cicatrice.

Animal témoin.

Animal vacciné.

Soixante heures après l'injection de 1/300 de cm³ de l'émulsion.

Le cobaye neuf est mort en cinquante-deux heures.

Epiderme normal.

Dans l'hypoderme, lésion inflammatoire intense : œdème, vaste plage de fibrine, polynucléaires en nombre relativement petit, très pulvérulents.

Aspect de vitrification de la gangue conjonctive.

Lésion très accusée et très étendue : les régions périphériques sont condensées et les leucocytes sont plus nombreux.

Lésion musculaire très importante avec mortification des fibres disparition des stries et des noyaux.

Assez nombreux bacilles dans la région malade.

Lésion inflammatoire intense avec nécrose.

Epiderme normal.

Dans l'hypoderme existe un abcès constitué par un tissu inflammatoire fibrinoïde à couches nombreuses et tassées renfermant quelques polynucléaires ; autour existe une gangue conjonctive en voie d'organisation. Le muscle est modérément œdématisé et infiltré de leucocytes.

Extrêmement rares bacilles localisés seulement dans l'abcès.

Abcès organisé. Diminution de l'inflammation.

Quatre jours après l'injection de 1/1000 de cm³ de l'émulsion.

L'épiderme et le derme présentent dans la partie centrale une zone nécrotique nettement limitée.

Dans cette zone les cellules se colorent mal, les noyaux ne sont pas visibles ; il y a quelques polynucléaires.

Dans l'hypoderme, grosse lésion œdémateuse, fibrineuse et leucocytaire.

Lésion fusant dans les muscles

La peau est normale.

Dans l'hypoderme, multiplication de noyaux et épaissement du tissu conjonctif dans une zone assez étendue ; mais il n'y a pas

Animal témoin.

qui présentent de gros amas de polynucléaires très altérés.

Gros amas microbien au milieu des leucocytes dans l'hypoderme et des quantités de bacilles dans les muscles, mélangés aux polynucléaires. On a l'impression que l'injection a été poussée en partie dans les muscles.

Lésion inflammatoire très intense, frappant l'hypoderme et les muscles.

Nécrose de la peau.

Animal vacciné.

de leucocytes. Les muscles sont intacts.

On ne voit pas de bacilles.

Lésion inflammatoire subaiguë.

Quatre jours et demi après l'injection de 1/1000 de cm³ de l'émulsion.

Voir figure 6.

Dans la région centrale la peau est nettement escharifiée : elle forme une petite bande foncée et se continue de part et d'autre par la peau normale.

Dans l'hypoderme lésion toujours très intense avec œdème, fibrine, assez peu de leucocytes. Nécrose du tissu.

Celle-ci gagne les fibres musculaires les plus proches qui sont vitrifiées et entourées de très nombreux polynucléaires, les uns pulvérulents, les autres assez bien conservés. Dans les régions les plus éloignées, de la zone infectée faible réaction conjonctive.

Grosse lésion inflammatoire avec mortification nécrotique accusée.

Voir figure 7.

La peau est normale.

Au centre de l'hypoderme une petite zone contenant de l'œdème et des leucocytes en assez grande quantité.

Tout autour gangue conjonctive épaisse riche en noyaux et en cellules ; quelques vaisseaux dilatés.

Les muscles sont intacts.

Inflammation subaiguë limitée en voie de réparation.

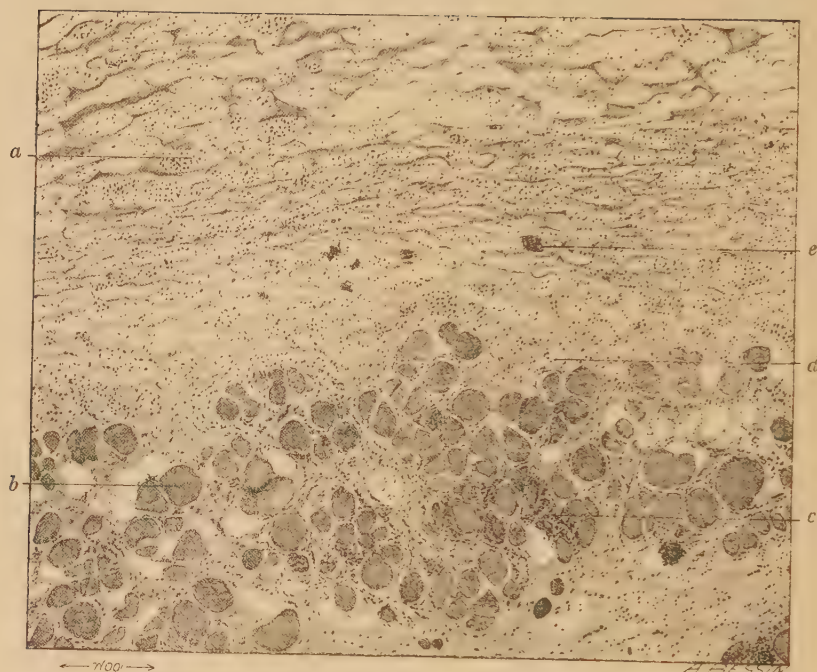


Fig. 6. — Animal *neut* sacrifié 4 jours et demi après l'injection de 1/1000 de cm^3 .

- a) Zone de fibrine d'œdème et de leucocytes pulvérulents.
- b) Fibres musculaires striées coupées transversalement frappées de mortification vitrifiante.
- c) Leucocytes polynucléaires dissociant des fibres musculaires, quelques unes de ces fibres sont pénétrées par les leucocytes.
- d) Réaction conjonctive légère.
- e) Petites colonies microbiennes.



Fig. 7. — Animal *vacciné* sacrifié 4 jours et demi après l'injection de 1/1000 de cm^3 .

- a) Abscès contenant des paquets de fibrine et de leucocytes bien conservés flottant dans la cavité.
- b) Tissu conjonctif de réaction formant une sorte de paroi.
- c) Fibres musculaires normalement striées.
- d) Zone conjonctivo-musculaire de réaction limitant l'abcès.
- e) Derme avec poils normaux.

Animal témoin.

Animal vacciné.

Cinq jours après l'injection de 1/1000 de cm³ de l'émulsion

L'épiderme est mortifié. Le derme est en voie de nécrose. Les bulbes pileux mortifiés sans qu'il y ait de réaction leucocytaire appréciable.

Dans l'hypoderme, vaste foyer d'œdème, de fibrine. Les leucocytes sont nombreux à la périphérie de ce foyer et relativement rares en son centre.

Dislocation et mortification des fibres qui sont infiltrées par place par des amas de polynucléaires, les uns très pulvérulents, les autres assez bien conservés.

Violente inflammation avec nécrose toxique.

(Par suite d'une erreur le cobaye vacciné a reçu 1/300 de cm³ de l'émulsion).

La peau est normale.

Dans l'hypoderme, légère prolifération conjonctive.

Les muscles sont intacts.

Cicatrice limitée.

Sept jours après l'injection de 1/1000 de cm³ de l'émulsion.

Escharrification de la peau. Dans l'hypoderme, énorme lésion œdémateuse, fibrineuse avec relativement peu de polynucléaires. Forte lésion musculaire avec beaucoup de leucocytes.

La réaction conjonctive commence dans l'hypoderme dans les régions les plus éloignées du centre de l'inflammation ; elle s'étend dans les muscles.

Nombreux et gros amas de bacilles dans l'œdème hypodermique, mais on n'en voit pas dans les muscles.

Enorme lésion inflammatoire avec nécrose.

Essai de réaction conjonctive.

Peau : normale.

Hypoderme : normal.

Muscles : normaux.

Aucun bacille visible.

Aucune séquelle.

Animal témoin.

Animal vacciné.

Neuf jours après l'injection de 1/1000 de cm³ de l'émulsion microbienne.

L'épiderme et le derme présentent dans la partie centrale, une nécrose vitreuse complète. La lésion hypodermique est toujours aussi accentuée.

Une lésion musculaire très étendue infiltration leucocytaire abondante.

Dans la profondeur, très légère réaction conjonctive.

Inflammation intense avec nécrose.

Légère réaction conjonctive.

La peau est normale.

Le tissu hypodermique présente un épaissement léger avec multiplication des noyaux. Les muscles sont normaux.

Minime cicatrice.

Onze jours après l'injection de 1/1000 de cm³ de l'émulsion microbienne.

Le cobaye est mort onze jours après l'injection. L'épiderme et le derme sont totalement détruits ; les tissus sous-jacents sont le siège d'une énorme lésion inflammatoire, comprenant l'hypoderme et les muscles qui sont nécrosés, détruits, englobés dans l'œdème et la fibrine. Il y a peu de leucocytes.

Violente inflammation avec progrès de la nécrose.

Deux cobayes morts presque simultanément et ayant reçu la même dose de bacilles ont présenté des lésions identiques. Chez le deuxième, l'inflammation et la nécrose s'étendaient dans toute l'épaisseur de la paroi jusqu'au péritoine.

La peau est normale.

L'hypoderme présente un léger épaissement conjonctif. Les muscles sont normaux.

Cicatrice insignifiante.

Animal témoin.

Animal vacciné.

Dix-sept jours après l'injection de 1/1000 de cm³ de l'émulsion microbienne.

La couche épidermique est ulcérée, disparue dans une région.

La peau, l'hypoderme et les muscles sont normaux.

Le derme, l'hypoderme et les couches musculaires sont frappées de mortification nécrobiotique, fibrinoïde en quelques points.

La paroi abdominale n'est plus présentée que par un tissu conjonctif de réaction sur lequel s'insère en un point une portion de glande hépatique qui commence à être envahie par les fusées leucocytaires.

Nécrose de toute la paroi.

Aucune séquelle.

Réaction conjonctive sous-jacente ayant empêché la perforation totale.

De tous ces examens anatomo-pathologiques, nous pouvons maintenant tirer des déductions :

L'injection d'une grosse dose de bacilles (1/10 de cm³) donne dans les premières heures, des lésions du même ordre chez l'animal vacciné et chez l'animal neuf.

Dans les premières minutes n'existent que des modifications mécaniques provoquées par l'injection d'un certain volume de liquide. Dans les premières heures débute la réaction inflammatoire marquée par un œdème très intense et par la migration des polynucléaires : et cela seulement dans la région de l'injection. A cette période il n'y a pas de différence

qualitative dans les processus de défense des animaux neufs et vaccinés, mais une différence quantitative : la violence de l'agression infectieuse paraît moindre chez les vaccinés ; l'œdème, le foyer leucocytaire, sont plus localisés, mais plus intenses que chez les témoins.

Il semble qu'il s'agisse d'animaux identiques auxquels on aurait injecté, aux uns, des germes très pathogènes, aux autres, des bacilles peu pathogènes.

Par contre, après vingt-quatre heures le comportement des animaux est bien différent. Les animaux neufs ayant reçu l'injection de cette forte dose de bacilles meurent tous entre la vingt-quatrième heure et la quarante-huitième heure.

La lésion locale est relativement peu importante. Elle se limite à de l'œdème et à de gros amas de polynucléaires très picnotiques dans la zone de l'injection ; et cette inflammation gagne un peu vers les muscles.

Ce sont les lésions viscérales, l'intoxication de l'organisme qui ont amené la mort de l'animal ainsi qu'en témoigne l'autopsie, montrant des surrénales hémorragiques et des reins congestionnés, et non cette petite lésion pariétale qui témoigne certes d'une violente agression infectieuse, mais qui montre le peu d'efficacité des défenses naturelles de l'organisme, les vaisseaux étant à peine dilatés, l'appel leucocytaire violent mais impuissant, la défense conjonctive encore inexistante.

Au contraire chez l'animal vacciné, il n'existe

aucune intoxication générale, les cobayes continuent à courir et à se nourrir comme à l'ordinaire. Seule existe une lésion locale.

Celle-ci, dès le premier jour est très importante. A l'œdème s'ajoute une fibrinification considérable, de l'exsudat, les leucocytes sont extrêmement nombreux et restent en bon état. Ils se répartissent dans toute la zone injectée et ne forment que de très petites agglomérations où il existe un mélange de polynucléaires intacts et de polynucléaires picnotiques. C'est le début d'une lésion suppurée, et l'on a l'impression d'une lutte violente entre l'agression infectieuse d'une part, les phagocytes, l'exsudation d'autre part.

Dès le quatrième jour la réaction conjonctive limite cette suppuration et l'on assiste alors à l'enkystement d'un abcès. L'organisme a réussi à limiter l'infection par une barrière infranchissable.

A l'abri de cette paroi fibroïde les lésions inflammatoires périphériques diminuent de chaleur, d'étendue et disparaissent en quelques jours. Le contenu de cet abcès diminue de virulence de façon progressive, très lente ; il se transforme en un liquide dépourvu de toute septicité.

Cette lésion pseudo-kystique doit pouvoir subsister fort longtemps ou toute la vie chez l'animal vacciné, étant donnée l'épaisseur des parois et leur caractère fibroïde.

Dans un seul cas l'abcès encore chaud s'est ouvert en dehors, évacuant ainsi toute la région inflamma-

toire et laissant une ulcération bourgeonnante en voie de cicatrisation.

Chez l'animal vacciné, il n'existe donc pas d'intoxication générale. Au contraire, la lésion locale est très importante : abcédée, s'évacuant au dehors ou se transformant en un véritable kyste. Dans les deux cas l'organisme est parfaitement protégé : la lésion inflammatoire est exclue de l'organisme.

L'injection d'une dose moyenne de bacilles (1/100 de cm³) est également suivie dans les premières heures de réactions semblables chez le cobaye vacciné et chez le cobaye neuf.

Dans les premières heures la réaction inflammatoire apparaît, mais est plus étendue, plus violente chez l'animal neuf.

Après le premier jour au contraire la différence est flagrante.

Chez le cobaye neuf se produit une lésion surtout œdémateuse ; il y a relativement peu de leucocytes et ils sont très altérés. Bientôt commencent à apparaître des plaques de nécrose dans l'hypoderme. Au contraire le vacciné présente déjà un minuscule abcès avec très nombreux leucocytes dans toute la zone injectée et surtout en son centre, quelques polynucléaires se groupant en amas — les autres circulant dans l'œdème et la fibrine. Il existe donc une défense leucocytaire et tissulaire extrêmement active et on ne voit pas de nécrose.

Après trente-six heures, chez le cobaye neuf, on

observe des lésions importantes de nécrose du tissu graisseux de l'hypoderme, et même déjà des muscles les plus proches, montrant l'absence de défense des tissus contre la toxine diphtérique.

Chez le vacciné il existe au même moment une suppuration franche et l'hyperplasie conjonctive débute.

Au bout de quarante-huit heures, les cobayes neufs ayant reçu cette dose importante de bacilles meurent, du fait de l'intoxication de leur organisme, leurs surrénales sont en effet hémorragiques, leurs reins congestifs ; mais il existe chez eux une forte lésion locale d'apparence phlegmonneuse diffuse. Si la peau est intacte, on trouvera dans l'hypoderme et les muscles une épaisse région très enflammée avec de grosses plaques de nécrose, et peu de défense leucocytaire. Ici il n'y a pas de suppuration franche, pas de réaction conjonctive, mais un gros œdème, des polynucléaires tués et de la vitrification des tissus.

Chez le cobaye vacciné il y a au contraire un abcès en voie d'enkystement ; les polynucléaires sont en bon état, la gangue conjonctive commence à s'édifier : il n'y a pas de nécrose.

Dans la suite, ou bien cette suppuration s'évacue au dehors, l'épiderme tendu se rompt. L'évacuation des tissus infectés est suivie d'une cicatrisation progressive. Ou bien, cette inflammation après avoir atteint son acmé vers la quarante-huitième heure se calme progressivement. L'œdème diminue, les leucocytes sont moins nombreux, des macrophages

apparaissent, le tissu conjonctif s'hyperplasia et infiltre toute cette zone malade. Il ne reste bientôt plus qu'une petite cicatrice fibreuse, trace de cette violente inflammation hypodermique et musculaire.

Lorsque la dose de bacilles injectés a été minime, incapable d'amener rapidement la mort de l'animal par intoxication, la lésion locale est alors primordiale.

Au cours des premières heures et des premières jours les effets locaux sont analogues à ceux que présentent des cobayes injectés avec des doses moins fortes.

Après deux jours et demi, l'animal neuf présente une lésion diffuse phlegmonneuse, de sa paroi, sans suppuration, sans tendance à la limitation, avec peu de défense leucocytaire et beaucoup de nécrose.

Au contraire, l'animal vacciné a déjà constitué un abcès qui commence à s'enkyster ; la réaction conjonctive est très forte et la réparation des lésions commence.

Après quatre jours la différence est encore plus nette. L'animal neuf présente une inflammation de tout son hypoderme avec une nécrose importante de ses muscles et de sa peau : il n'y a pas de dilatation, ni d'oblitération musculaire. Cette nécrose est évidemment due à l'imprégnation progressive des tissus par une substance nocive ; celle-ci s'étend de proche en proche aux muscles, au derme, puis à l'épiderme. Les défenses de l'organisme semblent impuissantes contre ce poison.

Au contraire au même moment l'animal vacciné ne présente qu'une inflammation subaiguë ; la réparation des lésions se fait avec activité.

Dans les jours suivants la différence s'accuse de plus en plus. Chez l'animal neuf, la nécrose progresse rapidement ; bientôt toute la paroi a disparu et ce n'est que très tardivement, vers le huitième jour, que commence la réaction du tissu conjonctif (alors qu'on l'observe dès la trente-sixième heure chez le vacciné). En même temps, l'attaque infectieuse reste toujours violente et finit par provoquer la mort de l'animal.

Chez le vacciné on n'observe à ce moment qu'une minime cicatrice ou même l'absence absolue de toute lésion.

Nous allons maintenant étudier ce que sont devenus les bacilles injectés à ces animaux.

Une première remarque s'impose. Les bacilles de Klebs-Loëffler restent exactement cantonnés dans la région où l'injection les a déposés, c'est-à-dire, dans nos expériences dans la graisse sous-cutanée, plus ou moins près du derme ou de la couche musculaire, mais constamment dans la même zone.

Jamais ils n'émigrent vers la peau, ni vers les muscles. Malgré les grosses lésions inflammatoires ou nécrotiques que nos examens anatomo-pathologiques ont montré, nous n'avons pu y mettre de bacilles en évidence. Dans un seul cas, sur tous nos examens nous avons trouvé des bacilles colonisant dans les fibres musculaires, mais ici ils étaient en nombre tellement grand, et ce cas unique était si évidemment opposé à tous les autres que nous croyons que ces microbes ont été déposés dans les muscles par une injection un peu brutale et qu'ils y ont trouvé un milieu particulièrement favorable à leur développement. Ce cas nous paraît être l'exception qui confirme la règle absolue de l'absence de migration des bacilles diphtériques injectés dans l'hypoderme des cobayes.

Nous insisterons également sur la difficulté d'obtenir une mensuration quantitative des bacilles.

Etant donnée leur répartition très irrégulière, leur disposition fréquente en amas, les hasards d'incidence des coupes histologiques, si l'on peut sans trop de risque d'erreur affirmer l'absence de bacilles, leur nombre ne peut être estimé qu'avec une très large approximation, aussi nous sera-t-il difficile de préciser s'il y a eu culture ou au contraire diminution des bacilles injectés.

Enfin, notons que nous avons toujours retrouvé des bacilles injectés à l'état de pureté, tout au moins lorsque la peau était intacte. Ce n'est que lorsqu'elle était ulcérée que par infection de voisinage se mêlait aux bacilles de Loëffler des cocci en amas ou en chaînettes.

Résumons maintenant le sort de ces bacilles.

Immédiatement après l'injection, ils sont répartis en une nappe presque uniforme dans toute la région tuméfiée par l'injection aussi bien chez les cobayes vaccinés que chez les animaux neufs.

Dès que commence l'arrivée des leucocytes, ils se rassemblent en petits amas, peut être plus rapidement chez les cobayes vaccinés.

Ces amas sont entourés par les polynucléaires ; ils deviennent de plus en plus gros, drainant tous les bacilles des alentours et cultivant probablement *in loco*.

Chez l'animal neuf ayant reçu une forte dose de bacilles on observe de gros amas composés d'une quantité énorme de bacilles et de leucocytes picno-

tiques et la mort survient en vingt-quatre à quarante-huit heures.

Lorsque l'animal neuf n'a reçu qu'une minime quantité de bacilles on observe également la présence de ces amas au bout du même temps. Ils deviennent le centre de l'inflammation. Vers eux convergent les leucocytes. Dans leur voisinage débute la nécrose. Leur taille grandit peu à peu, le nombre des bacilles paraît augmenter d'une façon progressive en même temps que s'aggrave la lésion de la paroi.

Chez l'animal vacciné ayant reçu une forte dose de l'émulsion microbienne il se produit également des amas de bacilles et de leucocytes mais les amas sont plus petits, les leucocytes mieux conservés. Ils forment bientôt le centre de la suppuration et il est impossible alors de trouver des bacilles dans les zones uniquement œdématiées.

Dans l'abcès ils sont très nombreux pendant les vingt-quatre premières heures, se mêlant aux polynucléaires, puis au bout de quarante-huit heures, leur nombre paraît diminuer rapidement en même temps qu'ils changent d'aspect, se colorent mal, se transforment en granules juxtaposés de la longueur d'un bacille, de même que le vibron septique au cours de phénomène de Pfeiffer (voir fig. 8).

Leur nombre décroît ensuite très progressivement de sorte qu'après une quinzaine de jours il devient extrêmement difficile de retrouver quelques bacilles libres dans le pus de l'abcès et encore ont-ils une morphologie modifiée. Enfin, le vingt cinquième jour,



Fig. 8. — Image du pus d'un abcès enkysté dans l'hypoderme d'un animal vacciné sacrifié 18 jours après l'injection de 1/10 de cm³.

- a) Débris leucocytaires mélangés à des bacilles granuleux.
- b) Bacilles granuleux formant des chaînettes.
- c) Courtes chaînettes ayant la longueur d'un bacille.

nous n'avons pu voir que 3 ou 4 silhouettes bacillaires, toutes contenues dans de grandes cellules macrophagiques.

L'animal vacciné ayant reçu une dose plus faible d'émulsion présente la même répartition de ces bacilles dans la zone où l'infiltration leucocytaire est la plus dense : il n'est plus possible d'en trouver au dehors de la zone abcédée.

Le nombre des bacilles dès le début paraît diminuer. En effet très nombreux dans les premières heures, ils sont déjà rares au bout du premier jour et doivent être recherchés avec beaucoup de soins après quarante-huit heures. Il semble donc que non seulement leur culture ne se produit pas mais que leur disparition soit rapide.

Dans les jours suivants dans un cas il y a eu ouverture de l'abcès et l'on retrouve des bacilles de Klebs-Loëffler mélangés à de nombreux cocci, probablement par infection secondaire, car il est peu probable que cet abcès ait été provoqué par des pyogènes banaux amenés par une injection souillée, alors que dans tous les autres cas, l'émulsion bacillaire était pure.

Dans les autres cas la suppuration s'est rapidement résorbée et avec elle les microbes, probablement phagocytés par les cellules ou lysés, car il n'est plus possible d'en retrouver dans les lésions inflammatoires subaiguës après quatre jours.

La différence dans le sort des bacilles est donc flagrante chez l'animal neuf et le vacciné.

Dans le premier, il y a développement progressif

des bacilles dans la zone infectée jusqu'à la mort de l'animal. Chez les animaux vaccinés, ils ne paraissent pas augmenter de nombre ou bien faiblement et seulement dans les vingt-quatre premières heures. Dans la suite, ils sont progressivement lysés, transformés en granules et phagocytés jusqu'à disparition complète.

Connaissant le sort des bacilles injectés, les réactions histologiques des régions inoculées, et l'avenir des animaux en expérience, nous pouvons maintenant commencer à étudier le mécanisme de l'immunité antidiphthérique acquise par la vaccination.

Résumons l'effet de l'injection de bacilles diphtériques vivants chez l'animal neuf.

Les bacilles croissent rapidement dans la zone infectée et fabriquent de la toxine avec activité. Celle-ci se répand dans les tissus voisins et dans toute la circulation.

Lorsque la dose d'émulsion injectée a été grande, la production de toxine est donc considérable, étant donné le nombre des bacilles injectés et leur culture *in vivo*. Elle est si grande, qu'elle provoque la mort de l'animal en vingt-quatre à trente-six heures.

Lorsque la dose d'émulsion a été faible, la toxine est produite en quantité bien moindre, suffisante pour rendre le cobaye malade, même pour le tuer en quelques jours, mais la lésion a alors le temps d'évoluer et prend une importance primordiale.

C'est seulement chez des cobayes ayant reçu une minime quantité de germes que l'on observe bien les réactions de défense d'un animal neuf. Elles existent indubitablement, mais elles sont extrêmement tardives, légères et partant vaines. En effet, les leucocytes sont en nombre relativement peu élevé, ils sont rapidement tués, les tissus sont rapidement atteints par la nécrose qui s'étend en tache d'huile, la réaction conjonctive est tardive et reste toujours minime.

Par suite de la faiblesse de ces réactions de défense,

les bacilles continuent à se multiplier, à produire de la toxine, aggravant progressivement l'attaque infectieuse. Il se produit une course entre l'intensité de l'agression microbienne et les moyens de défense de l'animal. Ordinairement l'avantage reste aux bacilles et la mort se produit, sauf lorsque la dose de bacilles injectés au début a été tout à fait minime.

Tout différent est le comportement du cobaye vacciné. Il n'y a pas d'intoxication générale ; l'animal ne meurt jamais par l'injection des doses que nous avons employées.

Tout se résume en une affection locale.

Dans celle-ci, l'arrivée des leucocytes se produit dans le même temps que chez l'animal neuf, mais leur nombre est dès le début beaucoup plus élevé et surtout au lieu d'être rapidement tués, ils résistent et restent, la plupart du temps, en bon état, comme s'ils étaient d'une race plus vigoureuse, ou qu'ils subissent une attaque bien moins violente.

Les réactions tissulaires sont également un peu différentes : à l'œdème s'ajoute un très abondant exsudat fibrineux qui se dispose en strates superposées donnant un aspect feuilleté d'autant plus marqué que l'on est plus près du siège des bacilles.

Bref, il se produit une lésion suppurative avec une rapidité étonnante. Avec la même rapidité, celle-ci va être exclue de l'organisme, soit qu'elle se soit ouverte à l'extérieur, soit surtout que survienne l'enkystement de l'abcès. Dès la trente-sixième heure, la réaction conjonctive est bien visible à la périphérie

de la zone inflammatoire ; elle progresse rapidement et entoure l'abcès, d'une membrane fibreuse qui empêche tout passage des germes ou de toxine dans le reste de l'organisme.

Au cours de ces processus, on n'observe qu'une nécrose minime limitée à la proximité des amas bacillaires. Quelques fibres musculaires ou quelques faisceaux, au pire, sont mortifiés, mais jamais il n'existe de lésions nécrotiques énormes comme chez le cobaye neuf. Il semble donc que les réactions de défense des cellules soient plus violentes et que les tissus résistent mieux à l'action des microbes. On a l'impression qu'il s'agit d'organisme plus vigoureux, qui, non seulement supporte mieux l'offensive microbienne, mais attaque lui-même vigoureusement. En réalité, l'explication doit être différente : il est probable que dès le début l'attaque microbienne est neutralisée par la défense humorale. En effet, le nombre des microbes n'augmente pas ou plutôt, il diminue progressivement, malgré une virulence élevée. Celle-ci est d'ailleurs fortement diminuée, car l'absence de nécrose tissulaire ne constitue pas un milieu favorable à leur culture, contrairement à ce qui se passe chez les animaux témoins, l'aspect des bacilles change. Ils subissent la transformation granuleuse et cette modification de leur morphologie doit traduire une diminution de leur vitalité, puisque elle précède leur disparition totale. En petits nombres et malades, ces bacilles ne produisent qu'une faible quantité de toxine, malgré leur pouvoir toxigène

élevé, toxine qui limite ses effets à la proximité immédiate et qui ne peut produire de lésions, ni à distance, ni sur les viscères de l'animal. D'autant que cette petite quantité de toxine doit rapidement être neutralisée par l'antitoxine circulante.

Tout se résume donc peut-être, en la présence de l'antitoxine dans l'organisme du cobaye et dans la possibilité d'en produire rapidement une grande quantité.

Celle-ci neutralise la toxine, gêne la culture des bacilles *in loco*. Elle permet donc aux défenses naturelles de l'animal de s'exercer au maximum, au niveau de l'injection et c'est pourquoi la diapédèse leucocytaire est si intense et efficace, la défense tissulaire si remarquable et la réaction conjonctive si prolifique. L'animal lutte contre des bacilles qui ont un potentiel agresseur réduit, qui ne se développent plus.

Il semble donc que le rôle principal dans la défense du cobaye vacciné soit jouée par l'antitoxine et au contraire, que les lésions mortelles ou non soient facteur, surtout de la quantité de toxine élaborée au point d'injection.

Pour justifier ce point, trois méthodes s'imposent : en premier lieu : n'injecter que de la toxine chez des animaux neufs ou vaccinés pour vérifier si les lésions seront du même ordre que celles produites par des bacilles vivants virulents et toxigènes.

En second lieu : injecter des bacilles non pathogènes afin de préciser l'importance de la lésion inflammatoire. Pensant que dans ce cas, elles seraient chez

l'animal neuf du même ordre que celles que provoquent des bacilles pathogènes chez l'animal vacciné.

En troisième lieu : inoculer à des cobayes immunisés passivement par l'injection d'antitoxine, des bacilles pour observer les lésions et les comparer avec celles de l'animal vacciné au moyen de l'anatoxine.

CHAPITRE III

LÉSIONS PRODUITES PAR L'INJECTION DE TOXINE CHEZ DES ANIMAUX NEUFS OU VACCINÉS

Pour la première vérification, nous avons injecté à des cobayes neufs ou vaccinés des doses plus ou moins importantes de toxine, mais les animaux immunisés supportant des doses beaucoup plus considérables, que les animaux témoins ; nous avons dû, pour obtenir des lésions comparables, injecter des doses faibles aux animaux neufs, fortes aux vaccinés. De ce fait, la comparaison n'est pas d'une rigueur absolue, mais n'a que plus de valeur.

De même que dans les expériences précédentes, nos animaux étaient tous du même lot pesant de 250 à 300 grammes, ils ont été sacrifiés et examinés comme précédemment.

Animal témoin.

Animal ayant succombé en vingt-quatre heures à l'injection de 10 doses mortelles de toxine.

Animal vacciné.

Animal sacrifié vingt-quatre heures après l'injection de 10 doses mortelles.

Animal témoin.

La peau est normale.

Dans la graisse sous-cutanée s'est produit une diapédèse leucocytaire très abondante. Presque tous les polynucléaires sont très pulvérulents. Il y a quelques macrophages.

Cette zone infiltrée est très limitée. Il n'existe ni œdème, ni fibrine. Les fibres musculaires sont normales. On ne voit aucun bacille.

Forte diapédèse et nécrose leucocytaire.

Animal vacciné.

La peau est normale.

Tout l'hypoderme est le siège d'une vaste lésion œdémateuse, fibrineuse et leucocytaire. Les leucocytes se groupent en un point en un micro-abcès qui est en voie de formation. Ils sont bien conservés.

Les muscles sont dissociés par l'œdème et par les leucocytes.

Violente inflammation avec œdème et fibrine et formation d'un micro-abcès.

Animal sacrifié trente-six heures après l'injection de 500 doses mortelles. Voir figure 9.

La peau est normale.

Dans l'hypoderme s'est produit une intense exsudation œdémateuse et fibrineuse, surtout au centre de la lésion où existe un véritable lac œdémateux sans contenu cellulaire, sauf quelques rares polynucléaires intacts.

Autour de ce lac, les polynucléaires sont bien plus nombreux et très pulvérulents.

Les muscles sont très touchés par l'œdème, l'infiltration polynucléaire et surtout par la nécrose. Dans toute une zone les fibres sont vitrifiées, mortifiées.

On ne voit pas de bacilles.

Lésion inflammatoire très intense avec nécrose musculaire étendue et pulvérulence des leucocytes.



Fig. 9. — Animal vacciné sacrifié 36 heures après l'injection de 500 doses mortelles de toxine.

- a) Fibrine et leucocytes pulvérulents.
 - b) Fibres musculaires frappées de mortification vitrifiante.
 - c) Fusées leucocytaires infiltrant les espaces intersfibrillaires.
 - d) (Edème, fibrine et quelques leucocytes polynycléaires.
- A comparer avec les figures 4 et 5.

Animal témoin.

Animal ayant succombé en trente-six heures à l'injection de quatre doses mortelles.

La peau est normale.

Dans l'hypoderme existe une zone légèrement œdématisée, très localisée, qui contient une très grande quantité de leucocytes altérés.

Les muscles sont intacts. On ne voit pas de bacilles.

Inflammation localisée avec mort des leucocytes.

Animal ayant succombé en quarante-huit heures après l'injection de deux doses mortelles.

La peau est normale.

Dans l'hypoderme existe un petit foyer d'œdème contenant beaucoup de leucocytes, pas trop pulvérulents.

L'œdème est plus marqué, le nombre des leucocytes plus grand leur état meilleur que dans la coupe précédente.

Les muscles commencent à être infiltrés d'œdème et de polynucléaires. Quelques fibres sont nécrosés.

On ne voit pas de bacilles.

Violente lésion inflammatoire s'étendant aux muscles.

Animal vacciné.

Animal sacrifié quarante-huit heures après l'injection de deux doses mortelles.

La peau est normale.

L'hypoderme est épaissi par un peu d'œdème et une infiltration cellulaire composée de quelques polys intacts et de nombreuses cellules mononucléées.

La gangue conjonctive est irritée, les noyaux se multiplient. Les muscles sont intacts.

Pas de bacilles.

Inflammation subaiguë hypodermique.

Animal sacrifié quarante-huit heures après l'injection de 100 doses mortelles.

La peau est normale.

Dans l'hypoderme se trouve beaucoup de fibrine et d'œdème

Animal témoin.

Animal vacciné.

formant au centre un lac œdémateux ; les polynucléaires sont nombreux, pas très pulvérulents et ne paraissent pas devoir former un abcès.

Les fibres musculaires sont lésées par l'œdème et l'infiltrat leucocytaire. Quelques fibres sont mortifiées.

On ne voit pas de bacilles.

Inflammation aiguë s'étendant aux muscles.

Animal sacrifié quarante-huit heures après l'injection de 500 doses mortelles.

La peau est normale.

L'hypoderme est le siège d'une formidable lésion œdémateuse et surtout fibrineuse, particulièrement condensée, à la partie centrale de la coupe.

Les leucocytes sont nombreux et en bon état.

Les muscles sont très lésés nécrotiques et infiltrés de polynucléaires peu nombreux. Le tissu conjonctif interfasciculaire est transformé en fibrine. On ne voit pas de bacille.

Violente inflammation avec nécrose musculaire.

Animal sacrifié 4 jours après l'injection d'une 1/2 dose mortelle.

La couche épidermique est morte, sa teinte est modifiée ; les cellules de la couche malpighienne ont disparu et cette zone est infiltrée de polys. Seule la

Animal sacrifié 4 jours après l'injection de deux doses mortelles.

La peau est normale.

En un point l'épiderme est un peu épaissi par une modification du tissu conjonctif, englobant des amas fibrineux.

Animal témoin.

couche cornée maintient l'assemblage du tissu.

Le derme est infiltré de nombreux polynucléaires, les bulbes pileux sont mortifiés.

Dans l'hypoderme se trouve une zone très œdématiée formant un lac au centre et très infiltrée de polynucléaires, les uns intacts, les autres pieux.

Les muscles sont en partie vitrifiés et infiltrés de polynucléaires.

Pas de bacilles.

Lésion inflammatoire avec escharrification de la peau et nécrose musculaire.

Animal vacciné.

Il existe quelques cellules géantes contenant une couronne de noyaux périphériques.

Les muscles sont normaux.

Il n'y a pas de bacilles.

Inflammation subaiguë hypodermique.

Animal sacrifié quatre jours après l'injection de 100 doses mortelles.

La peau souffre un peu, sa teinte est plus claire, quelques fusées leucocytaires envahissent le derme.

Plusieurs poils sont mortifiés. L'hypoderme présente une énorme infiltration œdémateuse, fibreuse et leucocytaire.

La couche superficielle musculaire est nécrotique et l'œdème dissocie les faisceaux profonds. On ne voit pas de bacilles.

Violente inflammation avec nécrose de la peau et des muscles.

Animal très cachectique sacrifié sept jours après l'injection d'une demi-dose mortelle.

L'épiderme et le derme forment une masse anhydre, acidophile

Georges Sée.

Animal sacrifié sept jours après l'injection de 10 doses mortelles.

La peau est normale.

Dans l'hypoderme, dans une

Animal témoin.

où les éléments ne sont plus reconnaissables.

Autour de cet escharre, existe un espace libre puis la peau est normale.

L'hypoderme est déformé par une quantité formidable de leucocytes altérés.

Les muscles sont nécrosés et infiltrés d'œdème et de très nombreux polynucléaires.

Cette infiltration s'étend jusqu'à la séreuse et dans les parties profondes existe une légère réaction conjonctive de défense.

Pas de bacilles.

Enorme lésion inflammatoire avec escharre de la peau et nécrose musculaire.

Animal vacciné.

toute petite zone, le tissu conjonctif est un peu épaissi, les noyaux sont très nombreux.

Les muscles sont normaux.

On ne voit pas de bacilles.

Séquelle d'inflammation.

Animal sacrifié sept jours après l'injection de cinq cents doses mortelles.

La peau est normale.

L'hypoderme est très œdématisé, et contient quelques polynucléaires en bon état. Le tissu conjonctif est en prolifération active.

Les muscles présentent également de l'œdème et une hyperactivité du tissu conjonctif péri et interfasciculaire.

Certaines fibres sont nécrosées.

On ne voit pas de bacilles.

Lésion subaiguë avec nécrose en voie de réparation.

Animal cachectique, présentant une grande escharre, sacrifié neuf

Animal sacrifié neuf jours après l'injection de deux doses mortelles.

Animal témoin.

jours après l'injection d'une demi-dose mortelle.

La peau a complètement disparu. Le fond de l'ulcération est formé d'un tissu inflammatoire où se reconnaissent difficilement quelques lambeaux musculaires et des polynucléaires pulvérulents. Plus profondément existe une réaction conjonctive intense qui englobe dans ses mailles des débris musculaires nécrosés, et des fragments de fibres musculaires épaissies avec des noyaux très nombreux, fibres qui semblent être des myoblastes.

Nombreux microbes à la superficie de l'ulcération.

Ulcération citanée.

Réparation des lésions.

Animal vacciné.

La peau, l'hypoderme, et les muscles sont normaux.

Aucune séquelle.

Animal sacrifié neuf jours après l'injection de 100 doses mortelles.

La peau est normale.

L'hypoderme est épaissi par un tissu conjonctif d'apparence aduite très abondant.

/ Les muscles sont normaux.

On ne voit pas de bacilles.

Cicatrice fibreuse.

Nous voyons que les résultats fournis par l'injection de toxine sont très comparables à ceux fournis par l'injection de bacilles vivants pathogènes à quelques petites différences près.

En effet, chez l'animal témoin nous notons également que les fortes doses amènent rapidement la

mort de l'animal par intoxication générale, avant que la lésion locale ait eu le temps d'évoluer. Plus la dose de toxine a été faible, plus longue a été la durée de l'évolution avant la mort, plus la lésion locale est importante.

Chez les animaux neufs ayant reçu une dose minime de toxine, insuffisante pour être mortelle, la lésion pariétale est alors très importante et domine l'atteinte de l'état général. Malgré une alimentation normale, les animaux maigrissent beaucoup et perdent leurs poils.

La lésion locale est bien visible macroscopiquement : elle consiste, au début, en une tuméfaction élastique, puis la peau se dessèche et très rapidement, une escharre cutanée se forme, se sépare nettement des régions vivantes et se détache, puis la réparation des lésions se fait d'une façon très lente, progressive.

Microscopiquement, le point essentiel est l'importance de la nécrose. Dès le début, les leucocytes sont picnotiques. En quarante-huit heures, les muscles sont vitrifiés dans une zone très étendue ; on ne voit plus ni striation, ni noyaux. La fibre elle-même prend une teinte rosée, uniforme et a un aspect très caractéristique. Enfin la nécrose s'étend rapidement à la peau. L'atteinte est progressive, c'est d'abord la base du derme et les bulbes pileux, puis le derme et la couche de Malpighi, enfin, toute l'épaisseur de la peau est mortifiée par ce poison et l'escharre s'élimine. Nous voyons donc la violence de l'attaque par la toxine qui mortifie les tissus.

Comment se fait la défense de l'organisme ?

Au début, elle est débordée par l'impétuosité de l'attaque. L'afflux leucocytaire est intense, mais les globules blancs sont immédiatement tués. L'exsudation œdémateuse et fibrineuse ne se produit pas. Il n'y a aucune réaction conjonctive. La nécrose progresse sans rencontrer d'obstacle.

Au bout de quelques jours cependant, lorsque la toxine a été injectée en toute petite quantité, soit que son action s'épuise spontanément, soit qu'elle soit neutralisée par la production d'antitoxine par le cobaye, apparaît une réaction conjonctive et proliférative, très active, et l'on observe non seulement l'arrêt des lésions, mais leur réparation rapide. Des fibres musculaires jeunes remplacent celles qui ont été nécrosées ; le tissu conjonctif s'immisce dans le tissu inflammatoire et bientôt une cicatrice est produite.

Le comportement du cobaye vacciné est tout différent. En premier lieu, aucun de ces animaux n'est mort, malgré l'injection de doses énormes de toxine. Aucun n'a même présenté d'escarre. Leur état général est resté constamment bon. La maladie expérimentale a été uniquement locale. L'injection d'une très forte dose de toxine (500 doses mortelles), produit, en quelques heures des dégâts considérables et particulièrement une nécrose étendue de fibres musculaires, alors que nous n'en avons jamais observé chez les cobayes vaccinés ayant reçu des bacilles pathogènes (fig. 9). En outre, les polynucléaires sont presque tous pulvérulents. Seule la peau est intacte.

Malgré l'intensité de cette attaque, l'organisme présente cependant des réactions de défense. L'exsudation œdémateuse et fibrineuse est ici très marquée. La diapédèse leucocytaire est très active. C'est dès les premières heures que la lésion locale atteint sa gravité maxima ; par la suite, elle ne fera que diminuer d'acuité et d'étendue.

Au bout de quarante-huit heures, on observe également ce vaste foyer d'œdème et de fibrine, noyant l'hypoderme et les muscles qui sont en partie nécrosés, mais la diapédèse leucocytaire est plus forte encore, les polynucléaires sont maintenant intacts. Ultérieurement, l'inflammation décroît et la réaction conjonctive commencée devient très intense et répare les lésions.

En somme l'injection d'une très forte dose de toxine chez le cobaye vacciné produit une lésion massive d'une façon très brutale.

En vingt-quatre heures, elle a atteint son acmé. Mais dès le début, les défenses de l'organisme ont réagi ; les lésions ne progressent plus après vingt-quatre heures, leur réparation se fait en quelques jours.

Lorsque la dose injectée a été moins considérable, mais cependant très élevée (100 D. M.), il se produit également avec une très grande rapidité, d'intenses lésions locales avec beaucoup de nécrose. Dès le début également, les réactions de l'organisme sont vives et se marquent par une exsudation œdéma-

teuse et fibrineuse considérable et un afflux énorme de polynucléaires dont la plupart restent sains.

Enfin, la réaction conjonctive est plus précoce et la réparation des lésions se fait très rapidement, laissant une cicatrice fibreuse.

Lorsque la dose de toxine injectée est minime (pourtant suffisante pour tuer rapidement un cobaye neuf), il se produit une grosse lésion inflammatoire avec formation d'un micro-abcès. La toxine dans ce cas est incapable de léser les tissus de l'animal vacciné.

Étant donné l'absence de nouvel afflux de poison, et le peu de gravité des dégâts locaux, l'inflammation décroît très rapidement : seule la prolifération conjonctive subsiste. En peu de jours (3 à 4) toute trace d'inflammation a disparu.

Chez tous nos animaux vaccinés le processus a donc été identique. Attaque brutale atteignant immédiatement son maximum d'intensité, les lésions étant proportionnelles à la dose injectée. Mais immédiatement neutralisée par l'antitoxine, la toxine ne peut continuer ses effets nocifs et la réparation des lésions s'effectue avec rapidité.

Au contraire, chez l'animal neuf, l'attaque d'emblée très forte, peut tuer l'animal en quelques heures ou quelques jours. Sinon, elle aggrave les lésions progressivement et ce n'est que très tardivement que s'ébauche la réaction de l'organisme.

Malgré les différences observées, il y a donc une grande similitude entre le comportement des cobayes

injectés, soit avec des bacilles pathogènes, soit avec de la toxine.

En premier lieu, les cobayes vaccinés résistent dans les deux cas. Ils ne présentent ni morbidité, ni mortalité, contrairement aux animaux témoins.

Chez les animaux non vaccinés les lésions provoquées par les deux méthodes sont tout à fait comparables, sauf que la nécrose se produit d'emblée lorsque l'on a injecté de la toxine.

Chez les animaux vaccinés, les lésions sont un peu différentes.

En effet, l'injection de toxine produit de la nécrose tissulaire, ce qui n'existe pas après l'injection même d'une forte quantité de bacilles pathogènes, la toxine étant probablement neutralisée au fur et à mesure de sa production.

Enfin, l'injection de bacilles est suivie d'abcédation et d'extériorisation de l'organisme, car il y a des bacilles dont l'organisme cherche à se protéger. Au contraire, la toxine injectée est neutralisée *in loco*. Les réactions inflammatoires pour être très violentes, sont donc fugaces et seule la réparation de la nécrose, lorsque la dose de toxine injectée a été grande, est longue.

CHAPITRE IV

LÉSIONS PRODUITES PAR L'INJECTION DE BACILLES NON PATHOGÈNES A DES ANIMAUX NEUFS OU VACCINÉS

Pour vérifier l'action primordiale de la toxine chez les animaux neufs et partant le rôle principal de l'antitoxine chez l'animal vacciné, nous allons maintenant observer les résultats de l'injection au cobaye de bacilles non pathogènes, pensant que les lésions seront bien différentes de celles que provoquent une souche pathogène.

Nous avons employé la même méthode, seule la souche a été différente. Celle-ci étudiée préalablement, s'était montrée non pathogène pour l'animal. Il s'agit donc de l'injection de bacilles vivants, issus d'une culture de vingt-quatre heures, émulsionnée dans 10 centimètres cubes de sérum physiologique. Un dixième de centimètre cube de cette émulsion microbienne a été inoculée à chaque animal, soit une très forte dose de bacilles. La vaccination des animaux, le prélèvement dans la région malade, les examens histologiques ont été pratiqués comme précédemment.

Animal témoin.

Animal vacciné.

Trente-six heures après l'injection

La peau est normale.

Dans une région de l'hypoderme existe une zone tuméfiée par une grosse exsudation œdémateuse et fibrineuse et par de très nombreux leucocytes, les uns intacts, les autres picnotiques qui forment un véritable micro-abcès.

Les muscles sont un peu dissociés par l'œdème et l'infiltration leucocytaire. Leurs vaisseaux sont assez larges et contiennent beaucoup de globules blancs.

Les bacilles sont répartis à peu près régulièrement dans la zone abcédée.

Inflammation aiguë.

La peau est normale.

Il existe également une exsudation œdémateuse et fibrineuse abondante. Les leucocytes sont nombreux, surtout en un point où ils forment un micro-abcès.

Quelques fusées leucocytaires envahissent les muscles.

Les microbes sont très nombreux dans la couche leucocytaire.

Inflammation aiguë moins intense,

Trois jours après l'injection.

La peau est normale.

Dans l'hypoderme se trouve un micro-abcès assez peu d'œdème et de fibrine, mais beaucoup de polynucléaires relativement bien conservés. Dans la profondeur, le tissu conjonctif est irrité, les noyaux sont très nombreux.

Les faisceaux musculaires sont dissociés par une énorme prolifération conjonctive mais la fibre musculaire est intacte.

On ne trouve que 1 à 2 bacilles dans toutes la couche leucocytaire

Inflammation aiguë abcédée en voie d'organisation.

La peau est normale.

Une zone localisée de l'hypoderme est déformée par un gros œdème. Au centre, il y a un peu de fibrine, beaucoup de polynucléaires, les uns sains, les autres picnotiques. Des leucocytes mononucléés et des cellules conjonctives jeunes.

Les muscles sont intacts.

Inflammation subaiguë localisée.

Animal neuf.

Animal vacciné.

Six jours après l'injection.

La peau est normale.

Dans l'hypoderme se trouve un minuscule abcès formé d'une nappe de leucocytes pulvérulents et de fibrine, et à la périphérie de polynucléaires assez bien conservés. Ce pus est entouré par une gangue de tissu conjonctif formé de trousseaux fibreux plus épais.

Les muscles sont à peine dissociés par une légère prolifération conjonctive.

Dans l'abcès, quelques rares bacilles sont visibles.

Abcès enkysté.

La peau est normale.

Dans l'hypoderme existe une cavité très étroite, allongée, dont les bords sont faits de tissu conjonctif adulte tassé, en quelques points de ce bord se voient des polynucléaires en assez bon état, agglomérés en petits amas.

Tout autour le tissu conjonctif est épaissi.

Les muscles sont intacts.

On ne voit pas de bacilles.

Inflammation subaiguë localisée.

Neuf jours après l'injection.

La peau est normale.

Dans l'hypoderme, le tissu conjonctif a activement proliféré et forme une bande épaisse où se trouvent un grand nombre de polynucléaires intacts.

Les muscles sont envahis par la prolifération conjonctive, mais les fibres sont saines.

On ne voit pas de bacilles.

Inflammation subaiguë.

La peau est normale.

Dans une zone tout à fait localisée de l'hypoderme, se trouve un épaississement marqué du tissu conjonctif. Celui-ci est adulte et ne contient guère de polynucléaires.

Les muscles sont intacts.

On ne voit pas de bacilles.

Légère cicatrice.

Les résultats obtenus avec ces bacilles sont très différents de ceux que donnent des bacilles pathogènes.

En premier lieu, aucun des animaux vaccinés ou

neufs n'a semblé souffrir de la présence des microbes. Il n'y a naturellement pas eu de mort, et les cobayes n'ont pas été malades. Il n'existe donc aucun symptôme d'intoxication, ce qui est facilement expliqué par l'absence de toxine ou sa présence en quantité infime.

La lésion locale est le seul témoin de la présence des bacilles.

L'animal neuf se défend par une inflammation aiguë intense avec formation d'un abcès ; celui-ci s'enkyste, puis se résorbe et seule persiste une cicatrice fibreuse plus ou moins importante. Les muscles sont atteints par les fusées leucocytaires et la prolifération conjonctive, mais leurs fibres restent absolument indemnes de toute atteinte.

Les bacilles se localisent dans la région de l'injection, se multiplient peu ou pas, puis disparaissent progressivement en une semaine environ. On ne peut manquer de noter la similitude entre ces lésions et cette évolution, et ce que nous avons observé chez l'animal vacciné ayant reçu la même dose de bacilles, mais pathogènes, ce fait montrant bien la transposition que provoque la vaccination en cas de diphtérie. D'une maladie générale grave, elle fait une affection locale bénigne.

Chez l'animal vacciné, les lésions sont tout à fait du même ordre ; après une courte phase fluxionnaire, se produit un minuscule abcès qui se résorbe, laissant place à l'organisation conjonctive. Les réactions de l'organisme se produisent dans le même temps que chez l'animal neuf, elles passent par les

mêmes stades. Cependant, on peut noter de minimes différences.

Les leucocytes dans la zone inflammatoire sont en bien meilleur état. Les muscles ne sont pas du tout atteints par l'inflammation, si ce n'est par l'arrivée de quelques polynucléaires. La disparition des bacilles se fait toujours plus rapidement. Après trois jours, il n'est plus possible d'en trouver dans les coupes histologiques.

Les réactions de défense contre un bacille non pathogène sont donc identiques chez l'animal neuf et chez l'animal vacciné. Cependant, les quelques différences observées peuvent être dues soit à un mode de réaction spéciale, plus vif chez l'animal vacciné, des moyens de défense naturels de l'organisme, soit encore à la présence d'antitoxine dans le sérum de cette catégorie d'animaux. En effet, ces bacilles, quoique non pathogènes, se multiplient et secrètent de la toxine en quantité minime il est vrai, si petite que même chez l'animal neuf, elle est sans action nocive apparente, puisqu'on ne trouve aucune nécrose tissulaire et que ces bacilles semblent agir uniquement par leur présence dans l'organisme, action presque comparable à celle d'un corps étranger simple.

Chez l'animal vacciné, l'organisme se débarrasse plus vite et à moins de frais, des bacilles injectés.

S'il en est ainsi, les lésions doivent être identiques chez des animaux vaccinés par l'anatoxine ou jouissant d'une immunité passive due à l'injection d'antitoxine.

CHAPITRE V

LÉSIONS PRODUITES PAR L'INJECTION DE BACILLES A DES COBAYES IMMUNISÉS PASSIVEMENT

Dans ce but, nous avons injecté des bacilles vivants, pathogènes, puis non pathogènes, à des cobayes de 250 à 300 grammes, du même élevage, qui avaient reçu la veille en injection sous-cutanée dans la cuisse, un centimètre cube de sérum anti-diphtérique, soit 300 unités antitoxiques.

Les prélèvements et les examens ont été faits dans les mêmes conditions que dans les expériences précédentes.

Tous les animaux ont reçu en injection sous-cutanée, dans la région de l'abdomen, 1/10 de cm³ de l'émulsion microbienne préparée avec la souche *P. R. soude pathogène* employée dans les expériences précédentes. Les animaux neufs ou vaccinés dont nous avons décrit les lésions, nous serviront de comparaison.

9 heures après l'injection.

La peau est normale.

Dans l'hypoderme, existe de l'œdème, un peu de fibrine

et de très nombreux polynucléaires, la plupart intacts, quelques-uns altérés, qui forment un véritable micro-abcès.

Les faisceaux musculaires sont dissociés par de l'œdème et traversés par des fusées leucocytaires, mais la fibre musculaire est normale.

De très nombreux bacilles sont épars dans la zone suppurée.

Inflammation aiguë.

Vingt-quatre heures après l'injection.

La peau est normale.

Dans l'hypoderme, lésion inflammatoire aiguë avec œdème et fibrine ; afflux de polynucléaires formant un petit abcès.

Dans la profondeur, au-dessous de l'abcès, le tissu conjonctif commence à proliférer, des noyaux jeunes apparaissent.

Les muscles sont envahis par l'œdème et les leucocytes. La fibre a un peu perdu de sa striation.

On ne voit plus que quelques bacilles à aspect granuleux

Inflammation aiguë avec début de réaction conjonctive.

Trente-six heures après l'injection.

La peau est normale.

Dans l'hypoderme existe de l'œdème et de la fibrine ; de très nombreux leucocytes et polynucléaires picnotiques ou intacts qui, en un point, forment une masse puriforme.

Les muscles sont légèrement atteints par cette inflammation et par la prolifération conjonctive.

Très rares bacilles granuleux dans le pus.

Inflammation aiguë avec réaction conjonctive.

Trois jours après l'injection.

La peau est normale.

Dans l'hypoderme existe un foyer suppuré dont l'évolution paraît déjà ancienne car, outre des polynucléaires, presque tous intacts, se voient de nombreux mononucléaires. L'œdème a presque disparu et autour de ce foyer, le tissu conjonctif prolifère avec activité, encadrant cette lésion.

Les muscles sont gagnés par cette inflammation et la fibre paraît assez malade car les noyaux sont rares et la striation peu visible.

Inflammation aiguë en voie d'organisation.

Quatre jours après l'injection.

La peau est normale.

Dans l'hypoderme existe un abcès. Celui-ci est entouré par un tissu conjonctif néo-formé, épais, qui sépare le pus de la peau et de la couche musculaire.

Les muscles sont à peine atteints et ne présentent qu'une légère infiltration leucocytaire et des travées inter-fasciculaires un peu épaissies.

On ne voit pas de bacilles.

Abcès enkysté.

Cinq jours après l'injection.

La peau est normale.

La graisse sous-cutanée est normale.

Dans la couche musculaire persiste seule une prolifération conjonctive qui sépare les faisceaux et les fibres elles-mêmes. Celles-ci sont intactes.

On ne voit pas de bacilles.

Cicatrice musculaire.

Les animaux dont nous allons maintenant décrire les lésions ont reçu en injection sous la peau de la cuisse, 1 centimètre cube de sérum anti-diphtérique, soit 300 unités antitoxiques, et le lendemain, sous

la peau de l'abdomen, 1/10 de cm³ de l'émulsion dans 10 cm³ de sérum physiologique de la culture sur sérum de bœuf de la souche W, *souche non pathogène* employée précédemment.

Trente-six heures après l'injection microbienne.

La peau est normale.

Dans une petite zone de l'hypoderme existe une infiltration de leucocytes polynucléaires presque tous intacts; ils sont si nombreux qu'ils masquent le tissu normal. Il n'y a ni œdème, ni fibrine.

Les leucocytes s'infiltrent un peu vers la base du derme et pénètrent dans la couche superficielle des muscles dont la fibre reste intacte.

Les microbes sont très nombreux, répartis en petits amas disséminés dans la couche leucocytaire.

Infiltration polynucléaire considérable.

Trois jours après l'injection microbienne.

La peau est normale.

En un point de l'hypoderme existe un peu d'œdème et de fibrine et surtout un grand nombre de polynucléaires dont quelques-uns sont picnotiques et des cellules mononucléées.

Autour, le tissu conjonctif est irrité et prolifère.

Dans les muscles, existe une légère infiltration leucocytaire et de l'épaississement des travées fibreuses, mais la fibre est saine.

On ne voit pas de bacilles.

Lésion inflammatoire discrète déjà organisée.

Six jours après l'injection microbienne.

La peau est normale.

Dans une toute petite région de l'hypoderme subsistent

très peu d'œdème et de nombreux leucocytes polynucléaires intacts et des mononucléaires. Le tissu conjonctif prolifère activement et les fibres néo-formées entourent et traversent la zone inflammatoire.

Les muscles sont intacts.

On ne voit pas de bacilles.

Inflammation subaiguë.

Dix jours après l'injection microbienne.

La peau est normale.

Un point de l'hypoderme est épaissi par un tissu conjonctif dense formé de fibres adultes et de fibroblastes. Dans ce tissu subsistent quelques polynucléaires intacts.

Les muscles sont normaux.

On ne voit pas de bacilles.

Minime cicatrice.

Dès les premiers examens anatomo-pathologiques de ces animaux jouissant d'une immunité passive, nous sommes frappés de leur similitude avec les lésions observées chez l'animal vacciné par l'anatoxine.

Constamment, en lisant les coupes histologiques, nous avons l'impression du déjà vu, du connu.

En effet, le comportement des animaux ayant reçu des bacilles pathogènes est identique, quelle que soit la nature de leur immunité, active ou passive.

Aucun de ces animaux ne meurt malgré la dose considérable de bacilles injectés. Aucun même n'est sérieusement incommodé, ne cesse de courir et de s'alimenter.

La lésion locale est le seul témoin de leur maladie.

Les réactions histologiques sont identiques : même

exsudation œdémateuse et fibrineuse, même afflux leucocytaire violent, réalisant en vingt-quatre à trente-six heures, un micro-abcès où la plupart des polynucléaires sont bien conservés ; même absence de processus nécrosant au niveau de l'injection ou à distance ; même lésion inflammatoire musculaire assez rapidement localisée, même réaction conjonctive, débutant dans la profondeur de l'hypoderme, très précocement, au bout de vingt-quatre heures, et devenant très active, enkystant les lésions inflammatoires, même évolution de ces lésions qui, en quelques jours, diminuent d'intensité, d'activité et régressent, ne laissant qu'une minime cicatrice fibreuse. Enfin, le sort des bacilles est semblable. Très nombreux dans les vingt-quatre premières heures, ils se groupent en amas, puis se raréfient, deviennent granuleux et disparaissent avec une rapidité extraordinaire, si bien qu'au quatrième jour, il est impossible d'en déceler dans les coupes.

La maladie provoquée, les processus de défense, les lésions causées par l'injection de bacilles pathogènes chez un animal immunisé par une injection de sérum anti-diphthérique sont donc tout à fait comparables à ce que l'on observe chez un animal vacciné par l'anatoxine. Il existe cependant une différence d'intensité, tout au moins au cours des examens que nous avons pratiqués.

Dans ceux-ci, en effet, les lésions sont moins étendues et moins graves que chez l'animal ayant une immunité passive. De même, la réaction conjonctive

est plus précoce, la disparition des bacilles beaucoup plus rapide. Enfin, l'évolution de la maladie est beaucoup plus courte, la régression beaucoup plus complète, puisqu'au bout de neuf jours, ces animaux ne présentent qu'une cicatrice hypodermique, alors qu'après vingt-cinq jours, l'animal vacciné ayant reçu la même dose de la même souche de bacilles a, dans sa paroi abdominale, un véritable kyste.

Il serait vraiment paradoxal de penser que les réactions de défense de l'animal immunisé par l'antitoxine sont d'une qualité différente, meilleures que celles de l'animal vacciné par l'anatoxine. Pour nous, l'explication est simple et tient à une différence de teneur en antitoxine du sang circulant de ces animaux.

En effet, les cobayes ont reçu 300 unités antitoxiques pour 20 cm³ environ de sérum qu'ils possèdent, soit 15 unités par cm³. Les bacilles injectés le lendemain se sont heurtés à cette impressionnante défense, alors que la plupart des animaux vaccinés par l'anatoxine ne possèdent en moyenne qu'une unité antitoxique au cm³, quantité d'ailleurs suffisante pour leur permettre de lutter vigoureusement contre l'infection expérimentale.

La différence d'intensité et d'évolution des lésions paraît donc uniquement expliquée par la quantité de l'antitoxine circulant dans le sang des animaux immunisés, et ce fait veut encore nous montrer le rôle primordial de l'antitoxine dans l'immunité, quelle que soit son origine.

De même, les réactions tissulaires sont semblables après injection de bacilles non pathogènes dans les deux procédés d'immunisation.

Ici aussi, nous notons un petit avantage à l'immunisation passive : mais il est certainement dû également à la plus grande quantité d'antitoxine circulant dans le sang de ces animaux.

Dans l'ensemble, l'immunité obtenue par l'injection de sérum se traduit par des réactions de défense tout à fait comparables à celles que provoque l'immunité active.

CHAPITRE VI

De ces différentes séries d'expériences, ressort avec évidence l'importance primordiale de l'antitoxine diphtérique dans le sang circulant des animaux dans leur défense contre les bacilles de Klebs-Loëffler.

C'est bien l'absence ou la présence d'antitoxine qui semble surtout caractériser la différence de comportement vis-à-vis des bacilles des animaux neufs ou immunisés, que cette propriété ait été acquise activement ou passivement, et plus grande est la quantité d'antitoxine titrable dans le sérum des animaux, meilleure est leur résistance à l'infection expérimentale.

Pour affirmer l'importance de l'antitoxine dans l'immunité acquise après vaccination nous disposons de plusieurs raisons d'inégales valeurs d'ailleurs.

En premier lieu, les lésions causées et les réactions de l'organisme sont tout à fait semblables chez les cobayes jouissant d'une immunité transitoire due à l'injection de sérum antidiphtérique et chez les animaux vaccinés qui présentent une immunité peut-être un peu plus faible dans nos cas, par suite

de la différence des doses employées, mais permanente, persistant certainement pendant des mois ou des années. Dans ces deux variétés d'immunité, même exsudation œdémateuse et fibrineuse même afflux de polynucléaires exerçant avec activité leur rôle de phagocytes, sans être trop lésés par les poisons microbiens, même inflammation aiguë franche très vive, se transformant en quelques heures en un abcès, même envahissement musculaire par l'œdème et les fusés leucocytaires, mais sans lésion de la fibre musculaire propre, même disparition progressive des bacilles. Enfin même réaction conjonctive remarquablement précoce et intense, limitant l'inflammation aiguë, l'enkystant complètement si elle ne s'atténue pas très rapidement, réparant les lésions et diminuant progressivement après la disparition des bacilles.

Tous ces phénomènes sont donc identiques, malgré l'emploi de deux procédés différents d'immunisation.

L'injection de sérum n'agit évidemment que par la présence d'antitoxine dans le sérum des animaux. Il est donc logique de penser, étant donné que les réactions de défense des tissus des animaux sont identiques, que cette même antitoxine joue également un rôle prépondérant chez les animaux vaccinés par l'anatoxine puisqu'on la retrouve dans leur sang en quantité importante.

En deuxième lieu, nous trouvons une autre preuve,

indirecte celle-ci, de l'importance de l'antitoxine dans la différence de lésions du cobaye vacciné et du cobaye neuf, Chez ces derniers, une forte dose d'émulsion microbienne amène la mort de l'animal par intoxication due à la toxine circulante, étant données les minimales lésions locales et les très grosses lésions viscérales observées. Chez les animaux ayant reçu une petite dose de bacilles se produit une exsudation œdémateuse mais relativement peu de fibrine, les leucocytes affluent en grand nombre mais deviennent très rapidement picnotiques ; il n'y a pas d'inflammation aiguë franche mais une large zone d'inflammation plus diffuse, moins organisée, moins collectée, que chez les animaux vaccinés.

Il existe une forte nécrose tissulaire dans l'hypoderme et surtout dans les fibres musculaires qui sont intensément lésées. Enfin les bacilles ne disparaissent pas, mais au contraire se multiplient, la réaction conjonctive est tardive, minime, inopérante.

On voit chez ces animaux les lésions locales se produire là où se forme la toxine et l'on constate leur extension progressive à mesure que cette toxine se répand dans les tissus, telle une tache d'encre sur un buvard.

Les animaux vaccinés ne présentent jamais cette nécrose. Tout se passe comme si les bacilles injectés, présents dans l'hypoderme ne sécrétaient pas de toxine, ce qui est parfaitement expliqué par la neutralisation par l'antitoxine de cette toxine au fur et à mesure de sa production.

En troisième lieu, en effet, nous avons constaté que l'injection de toxine pure provoque chez l'animal vacciné des lésions nécrotiques considérables, jamais observé en cas d'injection de bacilles. Les lésions sont très rapidement constituées ; leur gravité est proportionnelle à la quantité de toxine injectée. On conçoit aisément que l'antitoxine circulante se soit trouvée en quantité bien faible par rapport à cet énorme volume de toxine amené brutalement dans les tissus et qu'elle ne puisse la neutraliser entièrement. L'excès de toxine produit donc des lésions nécrotiques dans les tissus, lésions identiques à celles que nous avons observées chez les animaux neufs ayant reçu des bacilles : C'est donc bien la présence de toxine qui provoque les lésions des cobayes neufs et partant la présence d'antitoxine qui explique les différences observées chez les animaux vaccinés.

En dernier lieu, nous voyons une autre preuve de l'importance de l'antitoxine sérique dans le rapprochement des lésions du cobaye vacciné ayant reçu des bacilles pathogènes et du cobaye neuf ayant reçu des bacilles non pathogènes.

Ces deux variétés d'animaux font des réactions inflammatoires franches, vives, suppuratives englobant les bacilles, les entourant d'une gangue conjonctive et s'en débarrassant progressivement. Dans aucun de ces deux cas on n'observe de lésions dues à l'action d'une toxine.

L'absence de toxine explique l'absence absolue

de lésions viscérales à distance et de lésions locales dans le foyer inflammatoire où siègent les bacilles ou dans son voisinage immédiat.

L'organisme reste donc sain et sa vitalité n'est nullement diminuée. Les réactions de défense, normales, naturelles peuvent se produire sans retard et avec toute l'intensité nécessaire.

Les leucocytes affluent en grand nombre, ne sont pas ou peu lésés par la toxine lorsqu'ils arrivent dans la zone des bacilles, et peuvent exercer leur activité phagocytaire avec le maximum de puissance.

Le tissu fixe lui-même, non diminué dans sa vitalité par l'imprégnation toxinique, réagit rapidement, prolifère, s'épaissit et entoure la région enflammée par une barrière plus ou moins considérable.

Il se produit donc une réaction tissulaire absolument banale telle qu'il s'en produit chaque fois que l'on injecte à un animal des micro-organismes non pathogènes :

L'antitoxine circulante en neutralisant la toxine au fur et à mesure de sa production a permis aux réactions naturelles de défense de s'exercer. Grâce à elle, des bacilles diphtériques très pathogènes se comportent comme de simples saprophytes. Mais a-t-elle une action sur le développement et sur la virulence des microbes ?

Nous avons vu que chez l'animal neuf les bacilles injectées se multipliaient rapidement et étaient retrouvés facilement dans la zone injectée jusqu'à la

mort de l'animal ou jusqu'à l'élimination de toute la région injectée.

Au contraire, il ne semble pas que les microbes cultivent dans les lésions de l'animal vacciné, ou tout au plus leur multiplication ne se produit que pendant les vingt-quatre ou quarante-huit premières heures.

Ultérieurement ils diminuent de nombre et changent d'aspect, deviennent granuleux, se transforment en pseudo-chainettes, les unes se colorant bien, les autres restant très pâles, et étant très difficilement reconnaissables.

Lorsqu'une forte dose de bacilles a été injectée, la disparition est très longue et nous en avons trouvé de très rares, il est vrai, vingt-cinq jours après l'injection, dans le pus d'un véritable kyste de la paroi d'un de nos animaux.

Lorsque la dose de bacilles injectée a été faible le développement initial n'est pas perceptible. Leur diminution est au contraire rapide et leur disparition totale se fait en quelques jours.

L'antitoxine circulante dans le sérum joue-t-elle un rôle dans cette transformation du nombre et de la morphologie de ces bacilles ?

Rien n'est moins certain et nos expériences ne nous le montrent pas.

Les travaux d'Antona, dont nous avons parlé plus haut, complètent utilement nos expériences. En effet, il a pratiqué des prélèvements dans la région inflammatoire et fait des examens directs et des

cultures du liquide recueilli. Sauf chez quelques animaux où il n'a pu trouver de bacilles, probablement parce qu'il n'avait pu repérer la place exacte où ils avaient été injectés. D'Antona, dans tous les cas, même après une dizaine de jours, a retrouvé ces bacilles dans les mêmes conditions que nous, c'est-à-dire très nombreux pendant les vingt-quatre premières heures, puis plus rares et ayant un aspect granuleux plus ou moins prononcé.

Mais quel que soit le nombre et l'aspect de ces bacilles, les cultures ont été toujours nettement positives et leur pouvoir pathogène était égal à celui de la souche injectée aux cobayes.

L'antitoxine ne semble donc pas avoir atteint ces bacilles nullement diminués dans leur vitalité. S'ils ne se multiplient guère ou pas, c'est qu'ils ne trouvent pas un terrain favorable à leur culture étant donné qu'il n'y a aucune nécrose tissulaire, aucun milieu organique favorable, au contraire des animaux neufs où ils peuvent aisément se développer dans l'exsudat œdémateux encombré de leucocytes mortifiées et de débris cellulaires nécrosés.

Après quelques heures leur nombre décroît avec une vitesse d'autant plus grande que la quantité injectée a été plus faible et que les défenses de l'organisme sont plus actives.

On les voit en effet, dans nos coupes histologiques, groupés en amas dans les zones où les leucocytes sont les plus denses ; ceux-ci entourent les amas microbiens, les cernent, et commencent à les pha-

gocyter. Beaucoup des polynucléaires sont alors picnotiques, pulvérulents et forment le pus de l'abcès. D'autres surviennent et continuent le travail de digestion.

Le nombre des bacilles diminue donc progressivement à mesure que l'inflammation vieillit.

Lorsque la dose de bacilles injectée a été petite, leur disparition d'abord progressive, se fait soudain très rapidement, comme si à la phagocytose s'ajoutait une lyse brutale.

Lorsque la dose des bacilles injectée a été forte, leur disparition est au contraire tout à fait progressive, se faisant à l'abri d'une épaisse coque fibreuse d'une façon très lente. Et l'on observe nettement les polynucléaires phagocytant les bacilles ; le nombre des bacilles libres dans le pus diminue peu à peu et après quelques jours on ne peut en retrouver que de très rares, d'aspect granuleux et tous intra-cellulaires dans l'intérieur de grandes cellules macrophagiques.

La destruction des bacilles se fait donc d'une façon progressive en rapport avec la quantité de bacilles injectés. L'antitoxine ne semble pas intervenir dans cet acte puisqu'on observe aucune modification brutale, ni aucune diminution de la vitalité des bacilles injectés.

Elle permet simplement le libre jeu des défenses de l'organisme et ce sont les phénomènes banaux, phagocytose, bactéryolyse, qui se produisent.

Ce sont exactement les mêmes phénomènes que

l'on observe chez tout animal infecté de microbes quelconques et en particulier ce que nous avons observé chez nos cobayes neufs auxquels nous avons injectés des bacilles non pathogènes et chez lesquels aucune trace d'antitoxine ne peut expliquer la disparition des bacilles. L'antitoxine n'a donc qu'une action indirecte sur les bacilles eux-mêmes.

L'antitoxine apparue dans le sang après la vaccination, joue donc le rôle le plus important dans la défense du cobaye contre la diphtérie expérimentale. Est-elle le seul témoin de l'immunité vaccinale ? N'existe-t-il pas d'autres modifications humorales ou cellulaires provoquées par la vaccination ?

Les premières sont difficiles à noter au cours des examens anatomo-pathologiques, si nombreux soient-ils. Cependant nous avons été frappés par l'absence de tout signe traduisant des modifications colloïdo-classiques provoquées par la vaccination. Nous n'avons point vu de réactions immédiates, explosives, telles qu'on les observe dans les réactions anaphylactiques. De même, dans nos examens plus tardifs, nous n'avons pas observé d'œdème particulièrement développé par rapport aux cobayes témoins, ni d'hémorragie, ni de dilatation vasculaire. Au contraire, sur ce dernier point nous avons été frappé de voir, au cours de ces processus inflammatoires si intenses combien peu il existait de troubles vasculaires ; les artères et les veines étaient à peine dilatées, et seulement sur quelques rares coupes on pouvait observer un grand nombre de leucocytes

longeant l'endothélium. Jamais nous n'avons vu de thromboses ni de signes infectieux prédominant autour des vaisseaux, si ce n'est des lymphatiques. Enfin nous n'avons pu déceler de bacilles dans la lumière des vaisseaux. Il n'existe donc que de minimes signes vasculaires au cours de ces diphtéries expérimentales.

Enfin, nous n'avons pas observé les nécroses rapides, étendues, qui sont l'apanage des manifestations de sensibilisation. Jamais nous n'avons observé de nécrose chez nos animaux vaccinés, au contraire des animaux témoins.

Contrairement à ce que l'on aurait pu attendre, l'immunité antidiphtérique des cobayes ne s'accompagne pas de sensibilisation.

L'anatoxine, quoique produite à partir d'un bouillon de culture de bacilles de Klebs-Loëffler ne semble pas avoir eu de fonction allergique.

Nous avons pas observé de différences humorales fondamentales entre les cobayes vaccinés et les témoins ? Il convient cependant de signaler un aspect un peu différent de l'exsudat.

Chez nos animaux témoins l'exsudat qui emplit les mailles du tissu hypodermique est un liquide d'œdème presque pur et d'Antona l'a trouvé clair et limpide. Au contraire, chez les animaux immunisés, l'exsudat est colorable, épais, floconneux et d'Antona a constaté qu'il coagulait très rapidement. Il semble qu'il soit beaucoup plus fibrineux et il paraît y avoir un rapport entre cette exsudation particulière

et l'immunité des animaux, car on l'observe dans tous les cas, que l'immunité soit passive ou active. Elle traduit donc probablement d'une manière spéciale la présence d'antitoxine circulante et non pas une modification humorale provoquée par la vaccination.

Enfin, nous avons vu le rôle des anticorps habituels agglutine bactériolysine, opsonine, etc... dont l'action est tardive et lente et ne paraît se développer qu'à la faveur de la présence d'antitoxine. Ces anticorps agissent certainement dans l'immunité du cobaye vacciné, mais leur présence ne paraît pas avoir été intensifiée par l'injection d'anatoxine.

Les modifications humorales, en dehors de l'antitoxine semblent donc minimes, inexistantes. En est-il de même de la défense cellulaire ?

Étudions d'abord les leucocytes dont l'afflux constitue un des premiers signes de l'inflammation. Cet afflux ne se fait pas plus rapidement chez l'animal vacciné que chez l'animal témoin. Il ne se fait pas non plus dans des proportions de nombre grossièrement différentes ; leur qualité est également semblables : s'il s'agit surtout de polynucléaires. Au bout de peu d'heures, une importante distinction s'observe : chez les animaux témoins ils sont intensément lésés et prennent vite un aspect picnotique et pulvérents au contraire des vaccinés où ils sont pour la plupart bien conservés.

On pourrait croire que ces leucocytes ont acquis grâce à la vaccination une activité plus grande, une

résistance plus forte, mais on observe le même aspect chez nos cobayes immunisés par une injection de sérum précédant d'un jour l'innoculation des bacilles. Il semble bien improbable qu'en vingt-quatre heures les leucocytes aient pu acquérir des propriétés différentes, qu'ils perdront d'ailleurs progressivement. Cette résistance des polynucléaires est bien plus aisément expliquée par la présence de l'antitoxine, neutralisant la toxine et permettant leur survie et leur apparente hyperactivité.

De même, nous avons vu le tissu fixe proliférer précocement, activement, quelquefois même d'une façon désordonnée, réalisant des aspects fibromateux chez les cobayes immunisés. Ici aussi, il existe une notable différence avec les animaux témoins, mais cette même réaction conjonctive s'observe également chez les cobayes ayant reçu du sérum et elle est justifiable de l'explication précédente.

Chez les animaux vaccinés, on n'observe que des réactions naturelles de défense. Leur force et leur efficacité est expliquée par la présence de l'antitoxine dans le sang circulant. C'est elle qui en permet le libre jeu alors que celui-ci est paralysé par la toxine chez le cobaye témoin.

Rien ne permet donc d'affirmer qu'il existe des modifications des réactions humorales et cellulaires chez les animaux vaccinés. Nous ne voyons en action que les moyens normaux, habituels de défense des organismes, mais ils en fonctionnent que sous le couvert de l'antitoxine. Dans la protection des ani-

maux contre la diphtérie expérimentale, seule importe la quantité d'antitoxine circulante.

Cette antitoxine empêche toute intoxication générale. Elle modifie les signes locaux qu'elle semble exagérer à un examen grossier. Il y a en réalité diminution de la défense cellulaire chez l'animal neuf, alors qu'elle s'effectue normalement chez le vacciné.

Cette étude sur l'immunité acquise du cobaye par l'injection d'anatoxine diphtérique confirme donc les relations étroites entre les deux facteurs humoral et cellulaire, et l'interdépendance de leurs fonctions.

Sans anatoxine circulante, la phagocytose est vaine, la réaction conjonctive trop tardive, les microbes se multiplient et même injectée en petite quantité finissent par amener la mort de l'animal lorsque la quantité de toxine élaborée est suffisante. C'est ce que nous avons observé chez nos animaux neufs.

Au contraire, lorsque de l'antitoxine circule dans l'organisme, qu'elle y ait été injectée sous forme de sérum antidiphtérique ou qu'elle y ait été produite par la vaccination, elle limite les dégâts causés par la toxine, empêche la mort de l'animal, mais est impuissante à assurer la disparition des bacilles agresseurs.

Il faut l'intervention des polynucléaires, des macrophages et nous voyons alors les phénomènes courants : agglutination, lyse, phagocytose, s'effectuer facilement sous le couvert de l'antitoxine.

La vaccination antidiphtérique par l'anatoxine agit donc exclusivement par la formation d'antitoxine.

La qualité de l'immunité conférée par la vaccination est proportionnelle à la quantité d'antitoxine circulante dans l'organisme et il est facile de la doser dans le sérum.

Cependant cette dernière méthode ne permet pas de mesurer exactement la résistance à l'infection diphtérique car il faut compter sur la réactivité spécifique des individus ou des animaux vaccinés qui leur permet de produire très rapidement une grande quantité d'antitoxine.

Cette réactivité spécifique n'est pas aussi facilement constatable que le taux de l'antitoxine sérique. Son existence n'en est pas moins certaine et explique la résistance à l'infection diphtérique de certains individus insuffisamment vaccinés et qui ne possèdent qu'une petite quantité d'antitoxine circulante. Cependant cette catégorie constitue l'exception. En règle, c'est la quantité plus ou moins grande d'antitoxine circulante qui fait l'immunité solide ou médiocre.

CONCLUSIONS

Cette étude expérimentale nous a donné les résultats suivants :

1^o Des cultures de bacilles pathogènes injectés à des animaux vaccinés provoquent une suppuration locale avec abondante fibrinification et très forte phagocytose.

Les microbes ne cultivent guère que dans les premières heures. Lorsqu'ils ont été injectés en grand nombre, ils subsistent au centre de l'abcès qui s'enkyste et ils sont peu à peu lysés et phagocytés et disparaissent lentement. Lorsqu'ils ont été injectés en petite quantité, leur disparition est plus rapide et la *restitutio ad integrum* du tissu lésé est complète en quelques jours.

Les mêmes cultures injectées à des *animaux neufs* provoquent à forte dose la mort de l'animal en quelques heures par intoxication avec de minimes lésions locales ; à petite dose une grosse lésion locale, surtout nécrotique, avec peu de fibrinification et de phagocytose, et la mort de l'animal en plusieurs jours.

Les microbes injectés ne cessent de cultiver jusqu'à la mort des animaux.

II^o Des animaux jouissant d'une immunité passive par l'injection de sérum antidiphthérique présentent les mêmes lésions locales et ont le même comportement que les animaux vaccinés.

La disparition des bacilles se fait de la même manière.

III^o Si l'on injecte de la toxine à des animaux vaccinés, il se produit des lésions locales surtout nécrotiques d'une façon très rapide et de gravité proportionnelle à la dose injectée. Mais jamais la mort ne se produit ; la réparation des lésions est rapide, la réaction des tissus franche et la *restitutio ad integrum* se fait plus rapidement qu'après injection de bacilles pathogènes.

Lorsqu'on injecte de la toxine à forte dose à des animaux neufs, la mort se produit en quelques heures avec un minimum de signes locaux, à petite dose en quelques jours, avec une grosse lésion pariétale de nature tout à fait comparable à celle que produit l'injection de bacilles.

IV^o Si l'on injecte des bacilles non pathogènes à des animaux vaccinés, il ne se produit qu'une irritation locale et les bacilles sont rapidement lysés et phagocytés.

Les phénomènes sont identiques lorsque les mêmes

bacilles sont injectés à des cobayes immunisés par une injection de sérum antidiphtérique.

Ils sont tout à fait du même ordre lorsque la même souche de bacilles non pathogènes est injectée aux mêmes doses à des animaux neufs. La réaction inflammatoire du tissu est aussi vive, la lyse et la phagocytose des bacilles aussi rapide que celle des animaux vaccinés. La seule différence importante entre les animaux vaccinés et les témoins nous paraît donc être la présence d'antitoxine circulante dans l'organisme et la faculté d'en produire très rapidement.

C'est cette antitoxine qui neutralisant la toxine élaborée empêche la mort de l'animal par l'intoxication quelle que soit la dose de bacilles injectés, c'est elle qui entrave la formation des lésions nécrotiques tissulaires et leucocytaires.

Sous le couvert de l'antitoxine les défenses normales de l'organisme peuvent donc s'exercer en toute facilité et produire la disparition plus ou moins rapide des bacilles suivant la quantité injectée, bacilles qui sont réduits à l'état de simples saprophytes.

Sa présence modifie à tel point les réactions tissulaires qu'elle transforme totalement les caractères habituels des bacilles diphtériques. A un bacille ordinaire doué d'un fort pouvoir toxigène elle semble donner les moyens d'action d'un microorganisme pyogène quelconque.

Alors que l'inoculation de bacilles diphtériques à un animal neuf produit localement de la nécrose avec

un minimum de signes inflammatoires et des lésions toxi-infectieuses à distance, les mêmes bacilles injectés à des animaux vaccinés ne produisent aucune intoxication mais une suppuration locale. Et il est vraiment curieux de constater que la simple présence d'antitoxine chez l'individu vacciné modifie à tel point les caractères du bacille qu'on le prendrait pour un germe différent par son mode d'action et par sa morphologie.

Au premier abord l'on pourrait penser à des germes distincts tellement les caractères des troubles provoqués par l'injection sont différents, alors qu'il s'agit en vérité de terrains différents, l'un normal, l'autre modifié par l'immunisation.

Plus l'immunisation est forte, moins violentes sont les réactions provoquées par la présence des bacilles. (Cependant il paraît impossible de les supprimer totalement ; l'organisme ayant toujours à éliminer ces bacilles, même s'il n'en subit aucun dommage local ou général).

La qualité de cette immunité est elle-même en rapport avec le taux de l'antitoxine du sérum et celui-ci est proportionnel à la quantité d'antigène injecté, ainsi que le montre l'expérimentation et la pratique de la vaccination. Et c'est pourquoi la vaccination mettant en œuvre une forte proportion de toxine modifiée servant d'antigène procure une excellente immunisation, alors qu'une atteinte diphtérique vraie n'est souvent suivie d'aucune immunité la quantité de toxine en circulation dans l'organisme ayant été

beaucoup trop faible pour constituer un antigène suffisant, surtout lorsque la smotherapie a été pratiquée précocement.

Le même fait nous permet de comprendre pourquoi plus que le volume injecté, plus que le nombre des injections, plus que l'intervalle entre elles, importe la quantité d'unités antigéniques fournies à l'organisme à vacciner.

VI. — C'est à la même conclusion qu'aboutit l'examen des dix années de pratique de la vaccination antidiphthérique par l'anatoxine de Roux.

Par les méthodes jusqu'à présent utilisées, 4 à 6 % des sujets ne sont pas immunisés et une proportion semblable ne l'est pas suffisamment. Malgré sa merveilleuse efficacité il convient donc d'améliorer les résultats afin de voir disparaître les trop nombreuses atteintes diphthériques chez des individus vaccinés.

Toutes les méthodes tendent à modifier l'antigène, à le concentrer et ont donné des résultats médiocres. Seule la vaccination antityphique et paratyphique associée à la vaccination antidiphthérique a donné 100, 100 de sujets immunisés, mais au prix de réactions vives, pouvant empêcher l'extension de cette méthode.

Une anatoxine à valeur antigénique remarquablement élevée nous a permis d'obtenir la proportion de 99, 44 % de négativité de la réaction de Schick sur un total de 355 enfants, tout en réduisant le nombre des injections à deux.

Les réactions post-vaccinales n'ont pas dépassé leur aspect habituel. Dans 40 % des cas une tuméfaction locale douloureuse s'est produite et a disparu en quelques heures. Dans 10 % des cas une légère élévation thermique n'a guère entravé l'activité des enfants. Enfin, dans 2 % des cas la réaction a été forte mais sans avoir jamais aucun caractère de gravité.

Nous espérons que ce progrès technique, améliorant considérablement les résultats de la vaccination tout en diminuant le nombre des injections permettra une application très large de cette méthode en faisant disparaître les dernières résistances.

Vu :

Le Doyen,

G. ROUSSY,

Vu :

Le Président de la Thèse,

R. DEBRÉ

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

CHARLÉTY

Bibliographie

OUVRAGES GÉNÉRAUX

- BESREDKA (A.). — Études sur l'immunité dans les maladies infectieuses (Masson, 1928).
- DEBRÉ (R.). — La vaccination contre la diphtérie (Masson, éditeur, 1933).
- DIPHTÉRIA. — *Medical Research Council* (Londres, 1923).
- METCHNIKOFF (E.). — L'immunité dans les maladies infectieuses (Masson, éditeur, 1904).
- NÉLIS (P.). — Contribution à la protection de l'enfance par la lutte contre la diphtérie. 1934.
- NICOLLE (M.), CÉSARI (E.), JOUAN (C.). — Toxines et anti-toxines (Masson, éditeur, 1919).
- RAMON (G.). — Sur le pouvoir flocculant et sur les propriétés immunisantes d'une toxine diphtérique rendue anatoxique, l'anatoxine (Note présentée par M. R. Roux à l'Académie des Sciences, le 1^{er} décembre 1923, t. II, p. 1.338).
- Des anatoxines (*C.-R. Académie des Sciences*, 23 avril 1924, t. I, p. 1.436).
- Sur la toxine et l'anatoxine diphtérique — pouvoir flocculant et propriétés immunisantes (*Annales de l'institut Pasteur*, janvier 1924, p. 1).
- Sur l'anatoxine diphtérique et sur les anatoxines en général. (*Annales de l'institut Pasteur*, janvier 1925, p. 1).
- L'anatoxine diphtérique : ses propriétés, son application (*Annales de l'institut Pasteur*, septembre 1928, p. 959, t. XLII).
- L'anatoxine diphtérique dans son application à l'immunisation active de l'homme et à la prophylaxie de la diphtérie (*Annales de l'institut Pasteur*, septembre 1930, p. 292, t. XLV).
- RAMON (G.). — Sur les propriétés essentielles de l'anatoxine diphtérique. (*Annales de l'institut Pasteur*, mai 1931, t. XLVI, p. 483).
- La méthode d'immunisation active par l'anatoxine diphtérique. Étude critique et comparative (*Bulletin de l'institut Pasteur*, 1932, p. 1 et p. 65).

* * *

- D'ANTONA (D.). — Pouvoir flocculant et pouvoir immunisant de l'anatoxine diphtérique (*Bul. Soc. Biol.*, 3 mai 1930, t. II, p. 33).
- Sulle proprietà immunizzanti dell' anatoxina difterica recuperata dal flocculato (*Atti ; R. Accad. d. Fisocritici in Siena*, t. VI, n° 9-10, 1931).
- Sull' importanza dell' immunità antitossina nella infezione sperimentale da bacilli difterici virulenti (*Pathologica*, Vol. 24, n° 485, p. 166, 15 mars 1932).
- ASAKAWA (Y.). — Sur l'infection diphtérique expérimentale et sur la question de la bacillémie diphtérique (*C.-R. Soc. Biol.*, 1933, t. CXII, p. 357).
- Immunisation du lapin par des échantillons d'anatoxine diphtérique de valeur antigène différenté (*C.-R. Soc. Biol.*, t. CXII, p. 1.308).
- AUBERTIN (E.), BOUDON (P.). — Les réactions allergiques provoquées par l'anatoxine diphtérique (*Paris Médical*, 12 novembre 1932, p. 393).
- BARBARY (F.). — La lutte contre la diphtérie. Une organisation départementale de la vaccination antidiphtérique. Ses étapes et ses résultats (*Bul. Ac. Méd.*, mai 1933, p. 377, t. CIX).
- BAYNE-JONES (S.). — The Titration of diphtheria toxin and antitoxin by Ramon's flocculation method (*Journal of Immunol.*, t. IX, p. 481, novembre 1924).
- BECK (M.). — Bacteriologische Untersuchungen über die Ätiologie der menschlichen diphterie (*Zeitsch. f. Hygiene*, 1890, t. VIII, p. 434).
- BEZANÇON (M.) et DREYFUS (Mlle S.). — Vaccination antidiphtérique dans une population scolaire et pré-scolaire de la banlieue parisienne (*Bul. Ac. Méd.*, octobre 1932, p. 1.169, t. CVIII).
- BESREDKA. — Études sur l'immunité locale dans la diphtérie (*Annales de l'institut Pasteur*, XLVIII, 1932, p. 438).
- BILLARD (G.). — La Phylaxie (Doin, éditeur, 1932).
- VAN BOECKEL (L.). — Rapport sur les renseignements et les résultats acquis en Belgique concernant les diverses méthodes

- d'immunisation artificielle active contre la diphtérie (*Annales de l'institut Pasteur*, 1928, t. CLII, p. 1.098).
- BOUCHET (M.). — Les acquisitions récentes sur le phénomène de la floculation et le titrage de l'antitoxine et de la toxine diphtériques. L'anatoxine diphtérique et ses applications (*Thèse de Montpellier*, 1925-26).
- O'BRIEN and PARISH. — Immunisation with potent unconcentrated diphtheria toxoid (*The Lancet*, 1932, July, p. 276, t. CCXXIII).
- BROCKMANN (H.) et SPARROW (H.). — Recherches expérimentales sur l'immunité antidiphtérique. Immunité individuelle et immunisation active (*Soc. Polon. Biol.*, 13 mai 1925, t. II, p. 371).
- BRUCHON (M.). — Vaccination antidiphtérique par l'anatoxine dans les écoles de Besançon (*Thèse de Paris*, 1927, t. X).
- BÜRGERS und BORMANN (F. Von). — Perkutane immunisierungs-versuche gegen diphterie infektion, nebst Kritischen Bemerkungen über Diphterie immunität (*Zeitschrift für Immunitäts f.*, 1932, t. LXXVI, p. 1).
- CAMUS (L.). — La vaccination antidiphtérique à l'académie : présentation d'un dispositif instrumental (*Bul. Ac. Méd.*, 1929, p. 150, t. CII).
- CHABRUN. — De l'infection et de l'immunité humorale chez l'enfant en bas-âge (*Thèse de Paris*, 1927).
- CROUZON (O.), LOISEAU (G.), LAFAILLE (A.). — Prophylaxie des infections typhoïdiques et de la diphtérie par la vaccination associée dans le personnel des hôpitaux de Paris. Insuffisance de la rhino-vaccination antidiphtérique (*Bul. Ac. Méd.*, février 1933, p. 236, t. CIX).
- DARRÉ (H.), LOISEAU (G.), LAFAILLE (A.). — De l'immunisation antidiphtérique par l'anatoxine diphtérique (*S. M. H. P.*, 1924, t. I, p. 729).
- Hypersensibilité des convalescents de diphtérie à l'anatoxine diphtérique (*S. M. H. P.*, 1924, t. II, p. 1.137).
- Sur la persistance du pouvoir antitoxique dans le sérum des sujets vaccinés par l'anatoxine antidiphtérique (*S. M. H. P.*, 1925, t. I, p. 565).
- DAVIDOVICI (D.). — Contribution à l'étude de la vaccination

antidiphtérique et à la durée de l'immunité conférée par l'anatoxine (*Thèse de Paris*, 1929, t. II).

DEBRÉ (R.), RAMON (G.) et THIROLOIX (P.-L.). — Étude biologique et immunologique sur la diphtérie (*Annales Med.*, 1931, t. XXIX, p. 460).

DEBRÉ (R.), RAMON (G.), MOZER (M. et G.), PRIEUR (Mlle). — Perfectionnements apportés à la méthode d'immunisation par l'anatoxine diphtérique (*Soc. Med. Hôp.*, 1931, t. II, p. 1.246).

DJOURICHITCH (M.). — L'association du streptocoque et du staphylocoque au bacille diphtérique est-elle capable d'entraîner la bacillémie diphtérique chez l'animal d'expérience (*Bul. Soc. Biol.*, 1^{er} juillet 1933, p. 999).

DOPTER. — La vaccination associée (antityphoïdique et antidiphtérique) appliquée à la prophylaxie dans l'armée (*Bul. Ac. Méd.*, mai 1931, p. 794, t. CV).

— Nouvelle étude sur la vaccination associée (antityphoïdique et antidiphtérique) dans l'armée (*Bul. Ac. Méd.*, mai 1932, p. 676, t. CVII).

— Essai d'application dans l'armée de la méthode simplifiée de vaccination antidiphtérique (*Bul. Ac. Méd.*, mai 1932, p. 726, t. CVII).

— La vaccination associée (antityphoïdique-paratyphoïdique et antidiphtérique) dans l'armée (*Annales de l'institut Pasteur*, 1933, t. L, p. 3).

DREYFUS (S.). — La prophylaxie antidiphtérique par la vaccination au moyen de l'anatoxine dans une ville de la banlieue parisienne (Boulogne-sur-Seine) (*Annales de l'institut Pasteur*, 1933, t. L, p. 339).

DREYFUS-SÉE (G.). — L'immunité du nourrisson. Contribution à l'étude de l'immunité héréditaire (*Thèse de Paris*, 1928).

DUFOURT. — Accidents rénaux consécutifs à la vaccination antidiphtérique (*S. M. H. L.*, 4 août 1929, *Lyon Méd.*, 1929, t. II, p. 131).

EBERHARD (H.). — Diphterie immunisierung mit diphtcutan (*Deut. Med. Woch.*, 3 février 1928, p. 181).

D'ESPINE (A.) et MARNIGNAC (E. de). — Recherches expérimentales sur le bacille diphtérique (*Revue Méd. de la Suisse Romande*, 1890, t. X, p. 34 et p. 99).

- FEIERABEND (B.) et SCHUBERT (O.). — Recherches effectuées sur des souches de bacille de diphtérie maligne (*Travaux de l'Inst. d'Hygiène publique de l'État Tchécoslovaque*, t. I, n° 2, avril 1930).
- FITZ-GERALD (J.-G.). — L'anatoxine diphtérique dans la prévention de la diphtérie au Canada (*Annales de l'institut Pasteur*, 1928, t. XLII, p. 1.089).
- FLANDIN (Ch.). — Deux expériences en grand de vaccination contre la diphtérie par l'anatoxine (*S. M. H. P.*, 1926, p. 691, t. I).
- FRIEDBERGER (E.). — Die theoretischen Grundlagen und Erfolge der diphteriereschutzimpfung (*Deut. Med. Woch.*, t. XLVI, n° 9, 1930, p. 341 ; *Deut. Med. Woch.*, t. XLVI, n° 10, 1930, p. 389).
- GILDEMEISTER (E.) et WATANABE (H.). — Lässt sich die Hornhaut des Kaninchens gegen diphterie toxin immunisieren (*Centralblatt f. Bakt.*, 1932, t. CXXV, p. 216).
- GOLDIÈ (H.). — La substance endocellulaire du bacille diphtérique (*C.-R. Soc. Biol.*, 1^{er} avril 1933, t. CXII, p. 1.314).
- HAMBURGER-GRAZ (F.). — Ueber die Entstehung der diphteriekrankheit (*Munch. Med. Woch.*, 20 juin 1930, p. 1.049).
- HOEN (E.) et TSCHERTKOW (L.). — Über bazillare immunität bei diphterie (*Centralblatt f. Bakt.*, t. CXX, p. 320, 1931).
- HOTTINGER (A.) et QUACK (E.). — Beitrag zur Kenntniss der negativen Phase nach di-immunisierung mit Anatoxin (*Zeit. f. Kinderheilkunde*, t. LIV, p. 494, 1933).
- HOUE (H. d'). — Contribution à l'étude de la vaccination antidiphtérique par l'anatoxine (*Thèse de Paris*, 1925).
- ISABOLINSKI (M.-P.) et GITOWITSH (W.-J.). — Experimentelle Ergebnisse über die Eigenschaften der diphterie-anatoxin (*Zeitsch. f. Immunitätsf.*, t. LXVII, p. 441, août 1930).
- ISABOLINSKI (M.-P.) und KARPATSCHEWSKAYA (B.). — Ueber neue Anatoxin-einverleibungsmethoden zwecks aktiver Immunisierung gegen diphterie (*Centralblatt. f. Bakt.*, t. CXIX, 1931, p. 84).
- ISABOLINSKI (M.-P.) und KARPATSCHEWSKAYA (B.). — Zur frage der Bakteriämie bei der diphterie (*Zeitschr. f. Immunitätsf.*, 1932, t. LXXVI, p. 475).

- JAUBERT et ROUGIER (Mlle). — Des avantages de la vaccination antidiphtérique dans les hôpitaux pour enfants et dans divers services publics (*Bul. Ac. Méd.*, novembre 1929, p. 324, t. CII).
- JENSEN (C.). — Immunisation antidiphtérique des enfants par une injection unique d'anatoxine antidiphtérique purifiée et concentrée (*Bul. Soc. Dan.*, 1931, t. XXXIII, p. 528).
- Durée de l'immunité après une injection unique d'anatoxine purifiée et concentrée (*Bul. Soc. Biol. Dan.*, 1932, t. III, p. 532).
- Réaction de schick et taux d'anatoxine, chez des enfants vaccinés par une injection unique d'anatoxine diphtérique purifiée et concentrée (*Bul. Soc. Dan. Biol.*, août 1931, t. III, p. 543).
- Titrage de la toxine et de l'antitoxine chez le lapin par la méthode intradermique (*Acta pathologica et microbiologica scandinavica Suppl.*, XIV, 1933).
- KLEIN (E.). — Further report on the etiology of diphtheria (*Report of the loc. Gov. Board.*, 1889-90, p. 143-214, 38 pl.).
- KRYSHANOWSKI (W.). — Über die biochemischen Beziehungen der diphterie bazillen zu dem Eiweis-körpern der Tierorganismus (*Centralblatt. f. Bact.*, 1932, t. CXXV).
- LAFFAILLE (A.). — La vaccination antidiphtérique par l'anatoxine de Ramon (*Thèse de Paris*, 1928).
- LECLAINCHE. — L'immunité transmise (*Thèse de Paris*, 1927).
- LEMAITRE (A.). — Contribution à l'étude de la vaccination antidiphtérique par l'anatoxine de Ramon. A propos de quelques résultats obtenus par cette méthode à l'école départementale de Vitry (*Thèse de Paris*, 1931).
- LEREBOULLET (M.) et JOANNON. — Immunisation antidiphtérique de l'enfant par l'anatoxine diphtérique. Allergie et réaction locale (*S. M. H. P.*, 1924, t. II, p. 1.123).
- LEREBOULLET (P.), BOULANGER, PILLET et GOURNAY. — Les résultats de la vaccination antidiphtérique à l'anatoxine de Ramon (*S. M. H. P.*, 1926, t. I, p. 683).
- LEREBOULLET (P.). — La vaccination antidiphtérique à l'hôpital des Enfants-Malades (*Bul. Ac. Méd.*, avril 1929, p. 491, t. CI).
- LESAGE (A.). — Note sur la vaccination antidiphtérique à l'hôpital Hérold (*Bul. Ac. Méd.*, 1927, p. 184, t. XCVIII).

- LESNÉ, MARQUÉZY, LEMAIRE et MONMIGNAULT. — De l'immunisation antidiphtérique par voie nasale chez l'enfant (*C.-R. Soc. Biol.*, t. XCVI, 1927, p. 1.205).
- LEVIEZ (J.). — La vaccination antidiphtérique par l'anatoxine de Ramon (*Thèse de Paris*, 1926).
- LÉVY (P.-P.) et LÉOBARDY (J. de). — Notes sur le pouvoir immunisant du sérum des porteurs de bacille diphtérique (*Annales de Médecine*, t. VI, n° 2, 1919).
- LÖWENSTEIN (E.). — Neue Wege der diphterie prophylaxie (*Deutsche Mediz Woch.*, 11 janvier 1929, p. 53).
- MADSEN (Th.) et SCHMIDT (S.). — Flocculation entre la toxine et l'antitoxine diphtériques et standardisation de l'anatoxine (*Bul. Soc. Biol.*, 27 novembre 1929, t. III, p. 882).
- MADSEN. — Sur les résultats des essais effectués en vue de la standardisation des anatoxines (Organisation d'Hygiène de la Société des Nations, 12 avril 1932, sous le n° C. H/C. P. S/39).
- MARTIN (L.). — Sur l'immunisation antidiphtérique avec l'anatoxine. (*Rap. à l'Acad. de Médecine*, avril 1924, p. 523).
- MARTIN (L.), LOISEAU (G.), LAFFAILLE (A.). — Essais d'immunisation des collectivités avec l'anatoxine diphtérique. (*S. M. H. P.* 1925, p. 885).
- Sur l'immunisation par l'anatoxine diphtérique dans les milieux scolaires et dans les préventoriuns ou sanatoriuns contaminés. (*S. M. H. P.*, 1926, p. 745, t. I).
- L'immunisation antidiphtérique par l'anatoxine chez l'homme. Application à la prophylaxie de la diphtérie. (*Annales institut Pasteur*, 1928, t. XLII, p. 1010).
- Quatre ans d'immunisation antidiphtérique à l'école primaire de Vitry. (Janvier 1926, novembre 1929). (*Bul. acad. Méd.*, novembre 1929, p. 337, t. CII).
- Contrôle de l'immunisation antidiphtérique. (*Bul. Acad. Méd.*, mars 1930, p. 277, t. CIII).
- MAY (P.) et DUDLEY (S.). — Active immunisation and diphteria (*The Lancet*, 1929, t. I, p. 656 ; *The Lancet*, 1929, t. I, p. 172).
- MERLAUD (H.). — Contribution à l'étude des bacilles diphtérique et diphtérimorphe. (*Thèse de Paris*, 1931).
- MÉTIN. — Le bacille de la diphtérie pullule-t-il dans les organes. (*Annales institut Pasteur*, 1898, p. 596).

- MONTMIGNAULT (F.). — Vaccination antidiphtérique par voie nasale. (*Thèse de Paris*, 1927).
- MORAX (V.) et ELMASSIAN (M.). — Action de la toxine diphtérique sur les muqueuses. (*Annales institut Pasteur*, 1898, p. 210).
- MUFFANG (G.). — La vaccination antidiphtérique. (*Thèse de Paris*, 1926).
- NECHTCHADIMENKO. — L'action préventive de l'anatoxine diphtérique vis-à-vis de l'infection diphtérique par la trachée chez l'animal d'expérience. (*Soc. Biol.*, 14 mai 1927, t. I, p. 1282).
- L'action préventive de l'anatoxine diphtérique vis-à-vis de l'infection diphtérique par la trachée chez l'animal d'expérience. (*Annales institut Pasteur*, 1928, p. 1129).
- NÉLIS (P.). — Du rôle de différents facteurs intéressants dans l'immunisation active contre la diphtérie au moyen de l'anatoxine. (*Annales institut Pasteur*, 1933, t. L, p. 78).
- NICOLLE (M.) et LOISEAU (G.). — Les facteurs de toxicité des bactéries. Études des bacilles diphtériques. (*Annales institut Pasteur*, 1911, p. 150).
- PARK (W.). — Remplacement du mélange toxine-antitoxine par l'anatoxine. Résultats comparatifs. (*American Journ. Publ. Health*, t. XXIII, n° 6, p. 600, juin 1933).
- PAWLOWSKY (A.). — Zür frage der infection und der Immunität. (*Zeitschrift für Hygiene und infection*, Kr, 1900, vol. XXXIII, p. 261).
- PICHOT (G.). — Valeur et durée de l'immunité obtenue par la vaccination avec l'anatoxine de Ramon. (*Thèse de Paris* t. XXXIX).
- PICO (C.-E.). — Action des mélanges neutralisés d'antitoxine et anatoxine diphtériques sur l'infection diphtérique expérimentale. (*Soc. Argent. Biol.*, 4 avril 1925, t. II, p. 261).
- Immunisation antidiphtérique au moyen de l'anatoxine (Toxoïde) et des vaccins bactériens. (*C. R. Soc. Biol.*, 1925, t. XCII, p. 899).
- PINTOZZI (V.). — Vaccinozioni antidifteriche. Risultati e deduzione sulle reazioni di schick in alcuni istituti di Firenze. (*Rivista di clinica pediatrica*, octobre 1932, vol. XXX, p. 1318).
- PINTOZZI. — Osservazione sulla reazione con tossina inattivata

- in rapporto alla reazione di shick nella ricerca dei recettivi alla difterite, (p. 1340).
- PLAQUET (F.). — Quelques contre-indications à la vaccination par l'anatoxine de Ramon dans la diphtérie. (*Thèse de Lille*, 1930-31).
- POCKELS (W.). — Untersuchungen über die perkutane anwendung von diphterie schutz impfstoffen. (*Deut. med. Woch.*, n° 24, juin 1931, p. 1017).
- PONDMANN (A.) et TASMANN (A.). — Reinigung von diphterie toxin und anatoxin. Immunisierungs versuche mit gereinigsten Anatoxin. (*Zeits. f. Immunitätsf.*, t. LXXII, 10 novembre 1931, p. 118).
- POTTER (F. de). — Appréciation de l'immunité antidiphtérique chez le cobaye. (*Soc. Biol.*, 11 octobre 1924, t. II, p. 898).
- POULAIN (P.). — Vaccination antidiphtérique dans la population scolaire d'une grande ville. (*Bul. Acad. Méd.*, juillet 1932, p. 914, t. CVIII).
- Résultats de trois années de vaccination antidiphtérique par l'anatoxine de Ramon dans la population scolaire d'une grande ville. (*Annales institut Pasteur*, t. XLVIII, 1932, p. 558).
- POVITZKY (O.-R.). — Degree of Immunization from injection diphteria anatoxin. (*Amer. Journ. of publ. health.*, t. XXII, 1932, p. 29).
- RAMON (G.). — Sur l'augmentation anormale de l'antoxine chez les chevaux producteurs de sérum antidiphtérique. (*Bul. Soc. Cent. Méd. Vet.*, Paris 1925, p. 227-348).
- RAMON (G.) et ZOELLER (Ch.). — Les vaccins associés par union d'une anatoxine et d'un vaccin microbien TAB ou par mélange d'anatoxine. (*C. R. Soc. Biol.*, janvier 1926, t. I, p. 106).
- RAMON et DJOURICHITCH. — Sur le pouvoir immunisant de l'anatoxine diphtérique apprécié par la résistance à l'infection de animaux vaccinés et par le dosage de l'antitoxine dans le sérum des animaux. (*Bul. Soc. Biol.*, 1926, 1^{er} juillet, p. 996).
- RAMON et ZOELLER. — De l'immunisation antitoxique par voie nasale chez l'homme et du mécanisme de l'immunisation oculaire. (*C. R. Soc. Biol.*, t. XCVI, 1927, p. 757).

- RAMON. — De la valeur comparée de l'anatoxine diphtérique et du flocculat anatoxine-antitoxine pour la production de l'immunité spécifique. (*C. R. Soc. Biol.* t. XCVIII, 1928, p. 351).
- De l'influence sur l'anatoxine diphtérique de la précipitation par certains agents chimiques. (*C. R. Soc. Biol.*, t. XCVIII, 1928, p. 354).
- RAMON, NOUREDDINE (O.), ERBER (B.). — Essais comparatifs sur l'immunité antitoxique chez les animaux sensibles ou naturellement réfractaires à l'intoxication diphtérique. (*C. R. Soc. Biol.* t. XCI, 1928, p. 562).
- RAMON (G.), DEBRÉ (R.). — Sur la teneur antitoxine spécifique du sérum des sujets vaccinés par l'anatoxine diphtérique. (*Annales de l'institut Pasteur*, septembre 1928, p. 327, t. XLV).
- Persistance et valeur de l'immunité antitoxique chez les sujets vaccinés au moyen de l'anatoxine diphtérique. (*Presse médicale*, juin 1930, p. 481).
- RAMON (G.), DEBRÉ (R.), MOZER (G.) et PICHOT (Mlle). — Valeur et durée de l'immunité conférée par l'anatoxine diphtérique. Dosage de l'antitoxine dans le sérum des enfants vaccinés. (*Bul. Acad. Méd.*, février 1930, p. 214, t. CIII).
- RAMON (G.). — Sur l'appréciation des différentes propriétés spécifiques de l'anatoxine diphtérique par la méthode de flocculation. (*Bul. Sc. Biol.*, 10 mai 1930, t. II, p. 141).
- RAMON (G.), DEBRÉ, THIROLOIX. — Sur le pouvoir pathogène du bacille diphtérique ? Moyens d'études. (*C. R. Soc. Biol.*, 8 novembre 1930, t. CV, p. 359).
- Sur le pouvoir pathogène du bacille diphtérique, son déterminisme, virulence et pouvoir pathogène. (*C. R. Soc. Biol.*, 8 novembre 1930, p. 362).
- Pouvoir pathogène essentiel de bacilles diphtériques isolés dans une épidémie parisienne récente. (*C. R. Soc. Biol.* 22 novembre 1930, p. 526).
- Sur l'aptitude toxigène des souches de bacilles diphtériques récemment isolées. (*C. R. Soc. Biol.*, 22 novembre 1930, p. 529).
- Sur le pouvoir flocculant des toxines diphtériques provenant des souches récemment isolées. (*C. R. Soc. Biol.*, 22 novembre 1930, p. 531).

RAMON (G.), DEBRÉ, THIROLOIX. — Sur la résistance des cobayes vaccinés par l'anatoxine à l'injection de cultures de bacilles diphtériques d'origines diverses. (*C. R. Soc. Biol.*, 13 décembre 1930, p. 745).

— Immunité antidiphtérique et résistance de l'homme à l'infection diphtérique. (*C. R. Soc. Biol.*, 13 décembre 1930, p. 748).

RAMON et NÉLIS (P.). — Essais comparatifs d'immunisation active de l'homme au moyen d'échantillons d'anatoxine diphtérique de valeur différente. (*Bul. Soc. Biol.*, 22 novembre 1930, t. III, p. 500).

RAMON, DEBRÉ et (M.) MOZER (G.). — Influence des doses d'anatoxine diphtérique dans l'immunisation active chez l'homme. (*Bul. Soc. Biol.*, 30 mai 1931, t. II, p. 485).

RAMON et NÉLIS. — Essais d'immunisation active chez l'homme au moyen d'une anatoxine diphtérique de valeur antigène élevée. (*Bul. Soc. Biol.*, 30 mai 1931, p. 487).

— Essai d'immunisation active de l'homme contre la diphtérie au moyen d'une anatoxine additionnée de chlorure de calcium. (*Bul. Soc. Biol.*, 30 janvier 1932, p. 571, t. I).

RAMON, TIMBAL (G.) et NÉLIS (P.). — Valeur antigène déterminée par la flocculation et pouvoir immunisant de l'anatoxine diphtérique chez l'homme. (*Bul. Soc. Biol.*, 23 avril 1932, t. I, p. 1257).

RAMON, ROBIN (V.) et RICHOU (R.). — La résistance naturelle du chien vis-à-vis de la diphtérie. Est-elle due à une immunité antitoxique d'origine occulte ? (*Bul. Soc. Biol.*, 29 octobre 1932, t. III, p. 425).

— L'immunisation et la production d'antitoxine diphtérique chez le chien au moyen de l'anatoxine diphtérique. (*Bul. Soc. Biol.*, 29 octobre 1932, p. 427).

RAMON et DEBRÉ. — La vaccination antidiphtérique par l'anatoxine. (*Presse Médicale*, n° 29 et 32 des 6 et 20 avril 1933).

RAMON et LEMÉTAYER (E.). — Sur la spécificité rigoureuse des interractions in vitro et in vivo des toxines, antoxines et antitoxines. (*C. R. Soc. Biol.*, 1933, p. 36).

RAMON. — Sur l'irréversibilité du processus de transformation des toxines diphtériques et tétaniques en anatoxines. (*Bul. Soc. Biol.*, 1933, 27 mai, p. 373).

RAMON et DJOURICHITCH. — Recherches expérimentales sur

- les vaccinations associées. (*Annales institut Pasteur*, octobre 1933, p. 407).
- RAMON (G.). — Essais sur l'immunité antitoxique. Du rôle essentiel de l'antigène spécifique dans l'apparition et le développement de l'immunité antitoxique. (*Presse Médicale*, 1933, p. 1377).
- Hypothèse sur la participation respective de l'antigène spécifique et de l'organisme à la formation et à la constitution de l'antitoxine. Le lien d'origine de l'antitoxine. (*Presse Médicale*, 1933, p. 1437).
- RAMON et NÉLIS. — De l'importance de la valeur antigène, de l'anatoxine dans la vaccination antidiphtérique. Parallélisme entre le pouvoir flocculant et le pouvoir immunisant. (*Annales institut Pasteur*, 1933, t. L, p. 66).
- RAMON. — Sur la production de la toxine diphtérique de valeur antigène intrinsèque très élevée. (*C. R. Soc. Biol.*, 1933, p. 8).
- RAMON, TIMBAL et NÉLIS. — Résultats obtenus dans la vaccination antidiphtérique au moyen de 2 injections d'une anatoxine naturellement riche en unités antigènes. (*C. R. Soc. Biol.*, 1933, t. CXII, p. 543).
- RAMON, NÉLIS et LACOMBLE (J.). — [Essais de vaccination antidiphtérique chez l'enfant au moyen d'une antoxine titrant 30 unités antigènes. (*Bul. Soc. Biol.*, 6 mai 1933, p. 5).
- RAMON, TIMBAL et DÉLIS. — De la vaccination antidiphtérique par l'anatoxine. (*Bul. Acad. Royale de Méd. de Belgique*, 1933, p. 355).
- RAMON et DEBRÉ. — Vaccination antidiphtérique au moyen de 2 injections d'anatoxine, titrant 20 unités antigènes. (*Bul. Ac. Méd.*, 21 novembre 1933, p. 412).
- RENAULT (J.) et LÉVY (P. P.). — De la résistance à l'immunisation antidiphtérique contrôlée par la réaction de schick. (*Bul. Soc. Péd.*, 1921, p. 202).
- Pathogénie de la diphtérie secondaire et diphtérino-réaction de schick ; absence d'énergie à la diphtérie dans la rougeole. (*Bul. Soc. Méd. Hôp.*, juin 1920, p. 816).
- RENAULT (J.). — A propos du vœu de l'Académie de Médecine sur la vaccination antidiphtérique. (*Bul. Ac. Méd.*, mars 1928, p. 312, t. XCIX).

- ROUBINOVITCH, LOISEAU et LAFFAILLE. — Immunisation antidiphtérique chez l'enfant avec l'anatoxine diphtérique. (*S. M. H. P.* 1924, p. 782).
- ROUGIER (A.). — La vaccination antidiphtérique par l'anatoxine de Ramon dans l'enfance. (*Thèse de Lyon*, 1931-32).
- ROUX et YERSIN. — Contribution à l'étude de la diphtérie. (*Annales institut Pasteur*, 1888, n° 12, p. 629).
- RUELLE (G.). — L'immunité dans la diphtérie. (*Revue Française de Péd.*, 1926, p. 424-439).
- SALIMBENI (A. T.). — La destruction des microbes dans le tissu sous-cutané des animaux hypervaccinés. (*Annales institut Pasteur*, 1898, t. VII, p. 122).
- SAUNDERS. — Observations on the use of alum-toxoïd as an immunising agent against diphtheria. (*The Lancet*, novembre 1932, p. 1047, t. CCXXIII).
- SCHICK (B.) et TOPPER (A.). — Effets de la tonsillectomie et de l'adénoïdectomie sur l'immunité antidiphtérique. (*Ann. de Méd.*, 1931, t. XXIX, p. 628).
- SCHMIDT (S.). — Sur l'emploi de l'anatoxine et du tapioca dans l'immunisation (*Soc. Danoise Biol.*, 1^{er} février 1926, t. XLIV, p. 606).
- Sur l'effet immunisant de l'anatoxine diphtérique additionnée d'hydrate aluminique. (*Bul. Soc. Danoise Biol.*, 10 février 1931, t. I, p. 765).
- Purification et concentration de la toxine et de l'anatoxine diphtérique. (*Annales institut Pasteur*, 1931, t. XLVI, p. 202).
- Immunisation de la souris contre la diphtérie. (*Bul. soc. Danoise, Biol.*, 16 juin 1932, t. II, p. 1126).
- SCHWARTZ (E.). — Immunità locale e infezione difterica cutanea sperimentale. (*Bollet. Dell' Inst. sieroter. milanese f.*, 11 février 1929).
- SDRODOWSKI (P.) et BRENN (H.). — Über der aktive immunisierung gegen diphterie mittels. Anatoxin. (*Centralblatt f. Bakt.*, t. XCVII, p. 125, 1926).
- SDRODOWSKI (P.) et CHALAPINA (K.). — Über die aktive immunisierung gegen diphterie mittels Anatoxin. (*Centralblatt f. Bakt.*, 1927, t. CI, p. 350).

- SDRODOWSKI (P.) et CHALAPINA (K.). — Recherches expérimentales et observations cliniques sur l'anatoxine diphtérique. (*Annales Institut Pasteur*, t. XLII, 1928, p. 1425).
- SELIGMANN (E.). — Weitere Ergebnisse der aktiven schutzimpfung gegen diphterie in Berlin. (*Deut. Med. Woch.*, janv. 1931, p. 96).
- SICARD, PARAF et WALLICH. — Contribution à l'étude expérimentale et clinique du renforcement de l'immunité par l'injection des substances amylacées (tapioca). (*Bul. Soc. Méd. Hôp.*, 1927, t. II, p. 1086).
- SIMIC (T.). — Das auftreten und die bedeutung von bakteriämie bei diphterie (*Centralblatt f. Bakt.*, 1931, t. CXX, p. 385).
- SORDELLI (A.) et SERPA (R.). — Vaccination antidiphtérique. (*C. R. Soc. Arg. Biol.*, 1924, t. XXVII, p. 825).
- SWYER (R.). — Antigénic properties of diphteria toxoid-antitoxin-flocules (*The Lancet*, mars 1931, p. 632).
- TOMCSICK. — Les résultats de la vaccination par l'anatoxine diphtérique en Hongrie. (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1932, t. XLVIII, p. 574).
- TOMCSICK (Y.). — Über den Wert verschiedener anatoxinpräparate bei der immunisierung von Menschen. (*Centralblatt f. Bakt.*, 1932, t. CXXV, p. 444).
- TZECHNOVITZER (M.) et KOCHKINE (M.). — Mécanisme de l'immunité contre la diphtérie. (*C. R. Soc. Biol.*, t. III, 19 octobre 1929, p. 316).
- ZOELLER (Ch.). — Toxine diphtérique et vaccination locale. (*Soc. Biol.*, 3 mai 1924, t. I, p. 1147).
- Action stimulante des infections diphtériques sur l'immunité vaccinale acquise chez le cobaye. (*Soc. Biol.*, 18 octobre 1924, t. II, p. 858).
- ZOELLER et MANOUSSAKIS. — De la conjunctivo-kératite diphtérique expérimentale. (*C. R. Soc. Biol.*, Paris, 1924, t. I, p. 1399).
- ZOELLER. — La vaccination par l'anatoxine diphtérique. Son rôle préventif à l'égard de la kérato-conjonctivite diphtérique expérimentale du cobaye (*Bul. Soc. Biol.*, 24 mai 1924, t. I, p. 1400).
- A propos de l'action curative de l'anatoxine diphté-

- rique sur les lésions de la diphtérie expérimentale. (*Soc. Biol.*, 14 juin 1924, t. II, p. 81).
- ZOELLER. — L'intradermo-réaction à l'anatoxine diphtérique ou anatoxi-réaction. La notion d'allergie dans la diphtérie. (*Soc. Biol.*, 21 juin 1924, p. 165).
- ZOELLER et MANOUSSAKIS. — Infection diphtérique et immunité locale. (*Soc. Biol.*, 26 juillet 1924, t. II, p. 660).
- ZOELLER. — Transmission de l'immunité antidiphtérique du cobaye femelle à sa descendance. (*Soc. Biol.*, 1925, t. I, p. 432).
- La réactivité spécifique naturelle ou acquise. (*Presse Méd.*, 25 juillet 1925, p. 994).
- La vaccination antidiphtérique des très jeunes sujets. (*Bul. Soc. Méd. Hôp.*, 31 juillet 1925).
- La vaccination par l'anatoxine diphtérique chez l'adulte. (*S. M. H. P.*, 1924, t. I, p. 644).
- Résultats cliniques de la vaccination antidiphtérique par l'anatoxine. La notion de réactivité. (*S. M. H. P.*, 1925, t. I, p. 744).
- Le rôle du terrain dans l'infection diphtérique et l'immunité antidiphtérique. De la réactivité naturelle. (*S. M. H. P.*, 1925, p. 853).
- ZOELLER et RAMON. — De l'influence des facteurs non spécifiques dans l'apparition et le développement de l'immunité antitoxique. (*Soc. Méd. Hôp.*, 1926, t. II, p. 1370).
- ZOELLER. — La réactivité spécifique après une atteinte de diphtérie. La réaction de flocculation chez l'homme. (*S. M. H. P.*, 1927, t. II, p. 1650).
- La réceptivité et l'immunité dans la diphtérie. L'allergie diphtérique. Étude immunologique. (*Presse méd.*, sept. 1924, p. 779).
- De l'emploi des vaccinations associées (TAB + anatoxine diphtérique) (*Bul. Ac. Méd.*, 1928, p. 1070, t. C.).
- Laryngite diphtérique de l'adulte. Les caprices de l'immunisation occulte. (*Soc. Méd. Hôp.*, 1928, t. I, p. 426).
- Le facteur constitutionnel dans la réceptivité à la diphtérie. Les familles à diphtérie. (*Soc. Méd. Hôp.*, 1931, t. II, p. 1429).
- ZADJEL (Mlle). — Sur la purification et la condensation de l'ana-

toxine diphtérique par l'ultra-filtration. (*Bul. Soc. Bibl.*, Varsovie, 9 novembre 1932, t. III, p. 1029).

ZADJEL (M^{lle}). — Vaccination antidiphtérique au moyen d'une anatoxine concentrée et purifiée par l'ultra-filtration. (*Bul. Soc. Biol.*, Varsovie, 9 novembre 1932, t. III, p. 1031).

WADSWORTH (A.), QUIGLEY (J.) et SICKLES (G.). — The purification and concentration of diphtheria toxoid. (*Journ. of Exp. Méd.*, t. LV. Mai 1932, p. 815).

WELCH AND (W.), ABBOTT (A.). — The Etiology of diphtheria. (*Bul. of the Johns Hopkins Hospital*, 1891, p. 25, t. II).

WELCH AND (W.), FLEXNER (S.). — The histological changes in experimental diphtheria. (*Bul. of The Johns Hopkins Hospital*, 1891, p. 107, t. II).

WRIGHT (J.). — Studies in the pathology of diphtheria. (*Boston Méd. and Surgical Journ.*, 1894, t. CXXXI, p. 357).

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	11
--------------------	----

PREMIÈRE PARTIE

VACCINATION HUMAINE

CHAPITRE I. — État actuel	15
CHAPITRE II. — Tentative de modification de la méthode	18
CHAPITRE III. — Méthode simplifiée	29

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE I. — Technique	39
CHAPITRE II. — Lésions des animaux neufs ou vaccinés ayant reçu des bacilles pathogènes.	50
CHAPITRE III. — Lésions produites par l'injection de toxine chez les animaux neufs ou vaccinés	84
CHAPITRE IV. — Lésions produites par l'injection de bacilles non pathogènes à des animaux neufs ou vaccinés.....	96

CHAPITRE V. — Lésions produites par l'injection de bacilles à des cobayes immunisés passivement.....	101
CHAPITRE VI. — Discussion	109
CONCLUSIONS.....	123
BIBLIOGRAPHIE	129

